

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Marko Baruškin
Jelena Kralj

**PRIMJENA ELEMENATA INDUSTRIJE 4.0 U BIOTEHNIČKIM
ZNANOSTIMA: ADITIVNE TEHNIKE U KREIRANJU KAPSULA S
BILJNIM MATERIJALOM I JESTIVIH HIDROKOLOIDNIH GELOVA S
BILJNIM EKSTRAKTIMA**

Zagreb, 2020.

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za održivi razvoj, Prehrambeno–biotehnološkog fakulteta pod mentorstvom prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak te je predan na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2019./2020.

Ovo istraživanje je provedeno u okviru projekta „Ekstrakcije bioaktivnih spojeva iz mediteranskog bilja sa „zelenim otapalima” primjenom visokonaponskog pražnjenja“ financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost (IP-2016-06-1913).

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA.....	2
3. TEORIJSKI DIO	3
3.1. Razvoj prema Industriji 4.0	3
3.2. Elementi Industrije 4.0.....	5
3.3. Implementacija Industrije 4.0 u industrijskoj proizvodnji	8
3.4. Aditivne tehnologije/proizvodnja.....	10
3.5. Održivost aditivnih tehnika	11
3.6. 3D printanje hrane	13
3.6.1. Metode 3D printanja hrane	15
3.6.1.1. Selektivno lasersko sinteriranje	15
3.6.1.2. Printanje primjenom vezivnog sredstva.....	15
3.6.1.3. Tintni ispis.....	16
3.6.1.4. Printanje na bazi ekstruzije.....	16
3.6.2. Materijali za 3D printanje hrane	18
3.6.2.1. Polivinil alkohol (PVA).....	21
3.6.2.2. Škrob.....	22
3.6.2.3. Agar	23
3.7. Usporedba konvencionalnih i nekonvencionalnih metoda ekstrakcije.....	25
3.7.1. Konvencionalne metode ekstrakcije	25
3.7.2. Nekonvencionalne (alternativne) metode ekstrakcije.....	26
3.7.3. Biljni materijal za ekstrakciju i liofilizaciju	28
3.7.3.1. Kadulja	28
3.7.3.2. Origano	30
4. MATERIJALI I METODE	32
4.1. Materijali.....	32
4.1.1. Pribor i aparatura	32
4.1.2. Kemikalije	33
4.2. METODE.....	34
4.2.1. Određivanje veličine čestica	34
4.2.2. Liofilizacija	34
4.2.3. Ispitivanje brzine oslobađanja (<i>in vitro</i> ispitivanje)	35
4.2.4. 3D ispis kapsula.....	36
4.2.5. Ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem (HVED).....	37
4.2.6. Razvoj recepture jestivih hidrokolooidnih gelova.....	38

4.2.7.	3D ispis jestivih hidrokoloidnih gelova	40
4.2.8.	Tekstura	41
4.2.9.	Boja	41
4.2.10.	Senzorska analiza jestivih hidrokoloidnih gelova.....	42
4.2.11.	Priprema uzorka za određivanje udjela ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti.....	45
4.2.12.	Određivanje ukupnih polifenola	45
4.2.13.	Određivanje antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom	46
4.2.14.	Utjecaj procesa na okoliš i ekonomičnost proizvoda	47
4.2.15.	Statistička obrada podataka	48
5.	REZULTATI	49
5.1.	Raspodjela veličine čestica.....	49
5.2.	Ispitivanje brzine oslobađanja (<i>in vitro</i> ispitivanje).....	50
5.3.	Kemijska analiza 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova.....	51
5.4.	Analiza teksture jestivih hidrokoloidnih gelova	54
5.5.	Boja.....	55
5.6.	Senzorska analiza 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova.....	56
5.7.	Utjecaj procesa na okoliš i ekonomičnost proizvoda	61
6.	RASPRAVA	65
6.1.	Raspodjela veličine čestica.....	65
6.2.	Kapsule.....	65
6.2.1.	Brzina oslobađanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula.....	66
6.2.2.	Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet.....	66
6.3.	Jestivi hidrokoloidni gelovi.....	67
6.3.1.	Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet.....	68
6.3.2.	Tekstura	70
6.3.3.	Boja	71
6.3.4.	Statistička obrada podataka	72
6.3.5.	Senzorska analiza jestivih hidrokoloidnih gelova.....	73
6.4.	Elementi industrije 4.0: utjecaj procesa na okoliš i socioekonomska prihvatljivost	74
7.	ZAKLJUČCI.....	77
8.	ZAHVALE.....	79
9.	LITERATURA.....	80
	SAŽETAK	89
	SUMMARY	90

1. UVOD

Industrija 4.0 označava novu, četvrtu, industrijsku revoluciju koja pokreće i transformira društvo na potpuno novi način pri čemu utječe na tehnološke, socioekonomske i kulturalne značajke (Justen i sur., 2018; Poór i sur., 2019). Kako bi se transformirao proces proizvodnje u potpuno digitalizirani, automatizirani i optimizirani tijekom proizvodnje primjenjuje se 9 načela Industrije 4.0 (Vaidya i sur., 2018), a glavnim pokretačima se smatraju internet stvari, industrijske mreže, kibernetičko-fizički sustavi, računalstvo u oblaku i pametne tvornice (Mrugalska i Wyrwicka, 2017). Jedno od 9 načela su i aditivne tehnike koje omogućavaju proizvodnju personaliziranih proizvoda visokih performansi, nisku cijenu i veliku brzinu izrade kompleksnih dizajna (Vaidya i sur., 2018).

Ubrzani način života uzrokuje nedostatak vremena za osnovne životne potrebe, što utječe na sve veće zanimanje potrošača za proizvode koji će omogućiti očuvanje zdravlja, jednostavnu konzumaciju, personaliziranost, a da pritom i izgledaju dobro (Vranšević, 2018). Stoga raste zainteresiranost za brojne dodatke prehrani i funkcionalnu hranu baziranu na biljnim ekstraktima poput začina, voća, povrća i ostalog biljnog materijala jer su bogati polifenolnim spojevima te poboljšavaju kvalitetu i hranjivu vrijednost hrane. Polifenolni spojevi posjeduju brojne biološke učinke uključujući i antioksidacijsku aktivnost. Istraživanja su pokazala da pripadnici porodice Lamiaceae posjeduju značajna antioksidacijska svojstva (Einhardt Blanki sur., 2020) od kojih se na Listi dozvoljenih biljnih vrsta u Prilogu III. Pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/2011) nalaze i kadulja i origano koji imaju dugu primjenu u narodnoj medicini. Brojna istraživanja potvrdila su da kadulja posjeduje antikancerogena, antiinflamatorna, antioksidacijska, antimikrobna, antimutagena i antidementivna svojstva (Ghorbani i Esmaeilzadeh, 2017), dok je za origano dokazano pozitivno djelovanje kod kroničnih degenerativnih i zaraznih bolesti te antikancerogeno, protuupalno, antioksidacijsko i antimikrobno djelovanje biološki aktivnih komponenti (Pezzani i sur., 2017).

Osim brige za zdravlje, društvo posljednjih godina sve više pažnje posvećuje i klimatskim promjenama. Globalni porast temperature posljedica je pojačanog „efekta staklenika“ zbog ispuštanja stakleničkih plinova u atmosferu. Potencijal globalnog zagrijavanja (Global Warming Potential, GWP) izražava se u odnosu na ugljikov dioksid (CO₂) (Pandey i sur., 2011), a aditivne tehnologije imaju potencijal postati ključnom proizvodnom tehnologijom u održivom društvu (Huang i sur., 2013). One se smatraju "čistom proizvodnjom" jer donose ključne prednosti za okoliš: malu potrošnju resursa, upravljanje otpadom te kontrolu zagađenja (Peng i sur., 2018).

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Sukladno potencijalu aditivnih tehnika kao elementa Industrije 4.0, opći cilj istraživanja je kreiranje polivinil alkohol (PVA) kapsula punjenih biljnim materijalom i jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima primjernom 3D printanja u svrhu kreiranja novih proizvoda s funkcionalnim svojstvima.

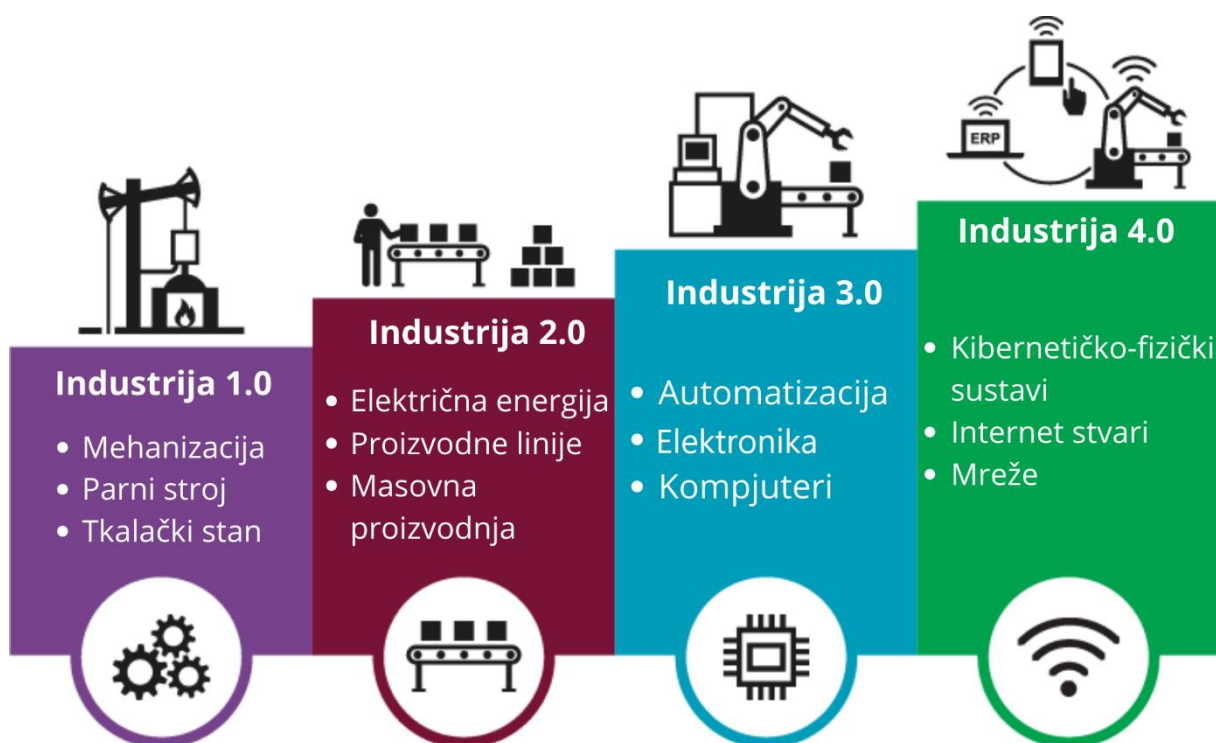
Specifični ciljevi rada su:

1. 3D ispis PVA kapsula
2. Priprema smjese hidrokoloida i biljnih ekstrakata za 3D ispis hidrokoloidnih gelova
3. 3D ispis jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima
4. Određivanje brzine otpuštanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom
5. Određivanje ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom
6. Određivanje ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova
7. Analiza fizikalnih svojstava (teksture i boje) 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova
8. Senzorska analiza 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova
9. Određivanje utjecaja procesa na okoliš (ugljični otisak) i ekonomičnost procesa

3. TEORIJSKI DIO

3.1. Razvoj prema Industriji 4.0

Pojam industrijske revolucije populariziran je od strane engleskog ekonomskog povjesničara Arnolda Toybeea kako bi opisao britanski ekonomski rast od 1760.-1840. godine. Industrijska revolucija definira se kao „razmjerno iznenadna i nasilna promjena koja pokreće industrijalizirano društvo, transformirajući to društvo na način koji ni jedna od prijašnjih takozvanih industrijskih revolucija nije učinila“. Utjecaj industrijske revolucije izravan je na tehnološke, socioekonomske i kulturalne značajke (Poór i sur., 2019). Faze u razvoju industrijske proizvodnje od ručnog rada prema konceptu Industrije 4.0 može se prikazati kao put kroz četiri industrijske revolucije što je prikazano na Slici 1 (Rojko, 2017).



Slika 1. Pregled industrijskih revolucija (Anonymus 1)

Prva industrijska revolucija, Industrija 1.0 započinje krajem 18. stoljeća, a karakterizira ju promjena korištenja izvora energije, odnosno mehanizacija procesa te donosi prijelaz s ručnog rada na prve proizvodne procese. Simbol Industrije 1.0 je izum Jamesa Watta – parni stroj. Osim na tehnologiju, značajan utjecaj se desio i na društvo, glavni pokretač promjena bila je poboljšana kvaliteta života u pogledu smanjenja pothranjenost populacije, poboljšanja higijenskih uvjeta te začetak urbanizacije (Rojko, 2017;Poór i sur., 2019).

Otkrivanje električne energije i pronalazak nafte predstavlja temelj za početak druge industrijske revolucije, Industrije 2.0 koja započinje stotinjak godina nakon Industrije 1.0.

Njena glavna pokretačka sila bila je elektrifikacija i razvoj montažnih linija koje omogućuju industrijalizaciju i masovnu proizvodnju. Prva montažna linija je izgrađena u klaonici u gradu Cincinnati, Ohio, a kasnije je Henry Ford usvojio tu ideju za svoju tvornicu Model T automobila. Druga industrijska revolucija, zbog ekspanzije otkrića i izuma poznata je još i kao revolucija tehničkih znanosti (Poór i sur., 2019).

Nakon završetka drugog svjetskog rata 1945. godine dolazi do postepenog oporavka društva te 60ih godina 20. stoljeća dolazi do početka treće industrije revolucije, Industrije 3.0. Prekretnica je bio izum programabilnog logičkog kontrolera (*Programmable Logic Controller, PLC*) koji predstavlja industrijsko računalo, upravljačku jedinicu za automatizaciju procesa u stvarnom vremenu. Glavne karakteristike Industrije 3.0 su digitalizacija, porast elektronike, automatizacija procesa i širenje informacijske tehnologije što dovodi do olakšane i fleksibilnije proizvodnje gdje se na proizvodnim linijama pomoću programiranih strojeva proizvodi mnoštvo proizvoda (Poór i sur., 2019; Rojko, 2017).

Danas smo u dobu četvrte industrijske revolucije, Industrije 4.0 koja se nadograđuje na Industriju 3.0 uključivanjem naprednih tehnologija prikupljanja podataka, komunikacije i analiza u industrijsku opremu (Jutsen i sur., 2018). Potaknuta je razvojem informacijsko-komunikacijskih tehnologija (*Information and Communications Technologies, ICT*) čija je tehnološka osnova pametna automatizacija kibernetičko-fizičkih sustava s decentraliziranom kontrolom i naprednim povezivanjem (Rojko, 2017). Digitalizacija i inteligentizacija (stvaranje pametnih sustava) (*Intelligentization*) proizvodnih procesa predstavlja potrebu današnje industrije sobzirom na tendenciju promjene prerađivačkih industrija od masovne prema prilagođenoj proizvodnji, koja uz napredak tehnologija i njihovom primjenom u industriji osiguravaju veću produktivnost (Vaidyaa i sur., 2018).

3.2. Elementi Industrije 4.0

Industrija 4.0 prvi puta je javno spomenuta 2011. godine na sajmu "*Hannover trade fair*" u Njemačkoj, a ubrzo se ovaj pojam počeo koristiti diljem Europe kako bi se opisale digitalne transformacije u proizvodnim pogonima industrije (Blunck i Werthmann, 2017).

Glavni pokretači Industrije 4.0 su internet stvari (*Internet of things*, IoT), industrijski internet stvari (Industrial Internet of Things, IIoT), kibernetičko-fizički sustavi (*Cyber-physical system*, CPS), računalstvo u oblaku (*Cloud based manufacturing*) i pametne tvornice (*Smart manufacturing*). Uvođenjem kibernetičko-fizičkih sustava i interneta stvari pokreće se i postupak pripreme, dizajna, planiranja, optimizacije, zadataka i alata te ljudi što vodi do 4. industrijske revolucije (Mrugalska i Wyrwicka, 2017). U Tablici 1. prikazana je evolucija proizvodnje s naglaskom na budućnost koja se veže uz Industriju 4.0.

Tablica 1. Evolucija proizvodnje (prema Mrugalska i Wyrwicka, 2017)

	prošlost	sadašnjost	budućnost
Komunikacijski sustav	Analogno	Internet i Intranet	Internet stvari Kibernetičko-fizički sustavi
Koncept	Golema administracija	<i>Lean</i> proizvodnja	Pametne tvornice
Rješenja	Mehanizacija i automatizacija	Automatizacija i kompjuterizacija	Virtualizacija i integracija

Postoje brojne definicije interneta stvari, no sva tumačenja vežu se uz integraciju različitih uređaja, razmjenu podataka, sposobnosti lokalizacije i praćenja te mogućnosti donošenja jednostavne samostalne odluke. Internet stvari omogućuju novu vrstu povezanosti između proizvodnje hrane, transporta, ugostiteljskih i maloprodajnih objekata te tako osiguravaju učinkovitu dostavu i veću sigurnost hrane (Xiaorong i sur., 2015).

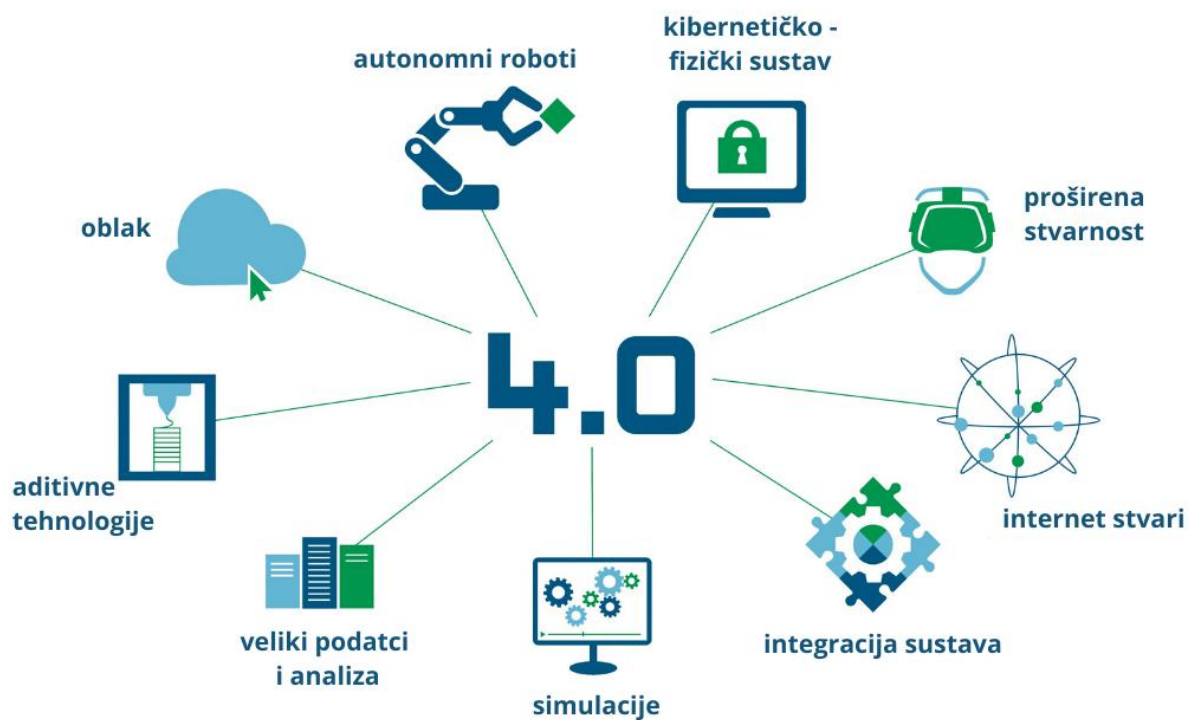
Kibernetičko-fizički sustav, je široki raspon mrežno povezanih, multidisciplinarnih, fizičkih inženjerskih sustava koji integriraju računanje i tehnologiju u fizički svijet, a unutar ovakve mreže svaka pametna komponenta mora sadržavati osjetila, mogućnost prikupljanja i prijenosa podataka te veliku količinu slobodnog prostora na oblaku. Smatra se da će kibernetičko-fizički sustav biti od velike važnosti u 4. industrijskoj revoluciji jer će omogućiti veliku fleksibilnost proizvodnje te olakšati i biti dostupan svim sudionicima u procesu (Morozov i sur., 2018).

Računalstvo u oblaku je pojam koji se odnosi na isporuku računalnih servisa vizualizacijom i mogućom promjenom veličine prostora ovisno o potražnji putem interneta. Osnovne karakteristike idealnog oblaka su samoposluživanje na zahtjev, širok mrežni pristup, udruživanje resursa, brza promjenjivost i primjerena usluga. Uz brojne prednosti računalstva u oblaku, postoje i određene opasnosti od narušavanja privatnosti i sigurnosti (Zhong-u i sur., 2017).

Koncept industrijskog interneta stvari odnosi se na korištenje inteligentnih strojeva, napredne analitike i povezanosti ljudi, odnosno glavne komponente industrijskih mreža su inteligentna oprema, inteligentni sustavi i inteligentno donošenje odluka. Navedeni elementi predstavljaju ključ buduće proizvodnje koji će omogućiti pametnije donošenje odluka od strane ljudi i strojeva. Industrijske mreže trebale bi omogućiti protok podataka, hardvera, softvera i inteligencije te tako omogućiti pohranjivanje, analiziranje i vizualiziranje podataka prikupljenih pomoću inteligentnih strojeva i mreža što bi u konačnici omogućilo i inteligentno odlučivanje. Primjena umreženih strojeva, materijala, radnika i inteligentnih sustava omogućuje nastanak pametnih tvornica (Zhong-u i sur., 2017).

Pametna tvornicom je tvornica u kojoj se koriste nova inovativna dostignuća u digitalnoj tehnologiji, a to uključuje naprednu robotiku, umjetnu inteligenciju, *hi-tech* senzore, računalstvo u oblaku, internet stvari, analizu i čuvanje podataka, digitalnu proizvodnju koja uključuje 3D printanje (aditivne tehnologije), softver kao uslugu i druge nove marketinške modele, mobilne uređaje, platforme za usmjeravanje motornih vozila te ugrađivanje svih elemenata u globalni lanac velikog broja tvrtki iz mnogih zemalja. Pametne tvornice bi trebale omogućiti vezu između strojeva i kibernetičko-fizičkih sustava te usmjeriti na proizvodnju pametnih/inteligentnih proizvoda i primjenu novih industrijskih procesa (Tjahjono i sur., 2017).

Industriju 4.0 Vaidya i sur. (2018) su opisali preko 9 načelakoja će u budućnosti transformirati proces proizvodnje u potpuno digitalizirani, automatizirani i optimizirani tijekom proizvodnje. Ovakvom promjenom doći će do veće učinkovitosti i promjene tradicionalnih odnosa između dobavljača, proizvođača i kupaca, ali i između ljudi i strojeva. Načela su prikazana u Slici 2.



Slika 2. Načela Industrije 4.0 (Anonymus 2)

U 9. načela ubrajaju se veliki podatci i analiza; autonomni roboti; simulacije; integracija sustava: horizontalna i vertikalna integracija; industrijske mreže; kibernetička sigurnost i kibernetičko-fizički sistem; oblak; aditivne tehnologije i proširena stvarnost. Industrijske mreže, kibernetičko-fizički sustav i oblak navedeni su kao osnovna načela, ali i glavni pokretači Industrije 4.0 što govori o njihovoj iznimnoj važnosti jer uz sebe vežu ostala načela te tako predstavljaju temelj nove industrijske revolucije.

Veliki podaci podrazumijevaju količinu podataka, raznolikost podataka, brzinu stvaranja novih podataka i vrijednost dobivenih podataka, a analiza sakupljenih podataka omogućuje otkrivanje prijetnji nastalih u različitim proizvodnim procesima, pretpostavku pojavljivanja novih problema te rješenja za njihovo sprječavanje. Autonomni roboti omogućuju precizniju i autonomniju proizvodnju izvršavajući zadatke u zadanom vremenu te osiguravaju veću sigurnost, fleksibilnost, svestranost i suradnju od ljudskih radnika. Primjena simulacija proizvodnih procesa može pomoći u smanjenju propusta u proizvodnji i povećati kvalitetu samog procesa, omogućiti praćenje vremena ciklusa, potrošnje energije i ergonomske aspekte proizvodnje. Integracija i samo-optimizacija temelji su u industrijskoj organizaciji, a Industrija 4.0 obuhvaća horizontalnu integraciju koja predstavlja mrežu stvaranja vrijednosti,

vertikalnu integraciju i umrežene proizvodne sustave te *end-to-end* inženjerstvo u cijelom životnom ciklusu proizvoda.

Aditivne tehnike omogućuju proizvodnju malih serija personaliziranih proizvoda koji nude brojne prednosti kao što su visoke performanse, velika brzina rada i niska cijena pri stvaranju kompleksnih dizanja. U industriji se proširena stvarnost može koristiti kako bi pružila brojne usluge za informiranje radnika, poboljšanje postupaka, donošenje odluka i slanje uputa za popravak te odabir ciljanih dijelova skladišta putem mobilnih uređaja (Vaidya i sur., 2018).

Kako bi se Industrija 4.0 implementirala u trenutne proizvodne industrije potrebno je primijeniti svih 9. načela koji će omogućiti transparentni i organizirani lanac nabave i industrijskog upravljanja, prikupljanje podataka s proizvodnih linija te optimizaciju uređaja, uštedu energije i optimiziranje održivosti.

3.3. Implementacija Industrije 4.0 u industrijskoj proizvodnji

Kako bi se industrijska proizvodnja povezala s Industrijom 4.0 mora se odabrati sustav najbliži načelima Industrije 4.0, a jedan od takvih sustava je *lean* proizvodnja. *Lean* proizvodnja predstavlja sustav orijentiran na učenje, organizaciju i kontinuirano poboljšanje (Mrugalska i Wyrwicka, 2017). Ona uključuje integriranje ljudi u proizvodni proces, fokusiranje na dodanoj vrijednosti proizvoda uz izbjegavanje nastanka otpada.

Za povezivanje industrijske proizvodnje i Industrije 4.0, Mrugalska i Wyrwicka (2017) opisali su pametne proizvode (*Smart products*), pametne uređaje (*Smart machine*) i povećane operatore (*Augmented Operator*). Ideja pametnih proizvoda je promjena funkcionalnog djela iz pasivnog u aktivni sustav. Pametni proizvodi mogu se sakupljati i koristiti za analizu informacija vezanih uz ponavljanje radnji iz njihovih senzorskih i semantičkih svojstava tehnologija kao što su kontekstualna osviještenost, prilagodljivost, samoorganizacija te sposobnost da podrži cijeli životni ciklus proizvoda čime bi se omogućilo kontinuirano poboljšanje. Pametni uređaji su uređaji koji zamjenjuju tradicionalnu hijerarhiju proizvodnje sa samoorganizacijom koju omogućuju kibernetičko-fizički sustavi, odnosno omogućeno je prikupljanje podataka s proizvodne linije pomoću senzora i bežične video veze u oblaku odakle se ti podaci mogu analizirati. Osim pametnih proizvoda i pametnih uređaja, uz Industrijom 4.0 vežu proširene operatore koji provode automatizaciju postojećeg znanja što ga čini najfleksibilnijim i adaptivnim dijelom u proizvodnom sustavu. Pomoću proširenih operatora trebalo bi se smanjiti vrijeme između pojave kvara i same obavijesti o kvaru, a dobivene informacije bi trebale sadržavati i poruku o pogrešci i mjestu pogreške.

Povezivanjem s kibernetičko-fizičkim sustavom omogućit će se prepoznavanje propusta te ako postoje odgovarajući senzori i automatsko popravljavanje kvarova.

Pametna tvornica obuhvaća pametne proizvode, pametne uređaje i proširene operatore. Ona otkriva smjer razvoja budućih proizvodnih pogona, no tehnologija mora još napredovati kako bi se dosegao potpuni potencijal i praktičnost primjene u industrijskoj proizvodnji (Blunck i Werthmann, 2017). Ovakva tvornica omogućuje komuniciranje putem softvera i mreža po vertikalnom lancu vrijednosti (od razvoja proizvoda, proizvodnje do usluge), pametni strojevi u stvarnom vremenu razmjenjuju informacije i upute s pametnim proizvodima duž cijelog životnog ciklusa, a senzori i upravljački elementi dijele informacije o problemima, kvarovima, promjenama u narudžbama ili potražnji.

Lean način proizvodnje doveo je u pitanje do sada prihvaćenu masovnu proizvodnju, a povezivanje pristupa *Lean* proizvodnje s Industrijom 4.0 trebao bi omogućiti još veći iskorak prema budućnosti. Za postizanje zadovoljstva kupaca koji traže kvalitetne proizvode s dodanom vrijednošću, bez nastanka otpada potrebna je fleksibilnost proizvodnih sustava i procesa te je potrebno integrirati informatičke sustave vezane uz proizvodnju s planiranim radnjama, kupcima i dobavljačima u kibernetičko-fizičkom sustavu što omogućuje Industrija 4.0 (Mrugalska i Wyrwicka, 2017).

Uz Industrijom 4.0 možemo povezati i pojam cirkularne ekonomije (*Circular Economy*). Implementacija njezinih načela olakšana je uz primjenu elemenata Industrije 4.0. Cirkularna ekonomija predstavlja koncept temeljen na smanjenju otpadnih resursa kroz učinkovitiji dizajn i primjenu procesa i proizvoda za poboljšanu učinkovitost resursa. Uključuje kružni protok resursa koji se sastoji od oporavaka (*Recovery*), ponovne upotrebe (*Reuse*), recikliranja (*Recycle*) i ponovne proizvodnje (*Remanufacture*). Upravo zbog toga, cirkularna ekonomija ne bi trebala biti opcija, već neizbježna ravnoteža između ekonomskog prosperiteta i ekologije što održava biološku raznolikost i podupire ekonomski rast. Da bi se postigla cjelovitost cirkularne ekonomije i dostigao taj nivo održivosti potrebno je dubinsko razumijevanje sastavnih elemenata njezina tehnološkog okvira i zato predstavlja značajan tehnološki izazov u pogledu novih inovacija, procesa i proizvoda (Jawahir i Bradley, 2016).

Implementacijom elemenata Industrije 4.0 dovodi do značajnih ekonomskih, ekoloških i društvenih koristi koji doprinose težnji prema cirkularnoj ekonomiji. Taj pristup otvara put prema iskorištavanju neiskorištenih resursa, poput otpada, i pretvori ga u bogatstvo. Takav ekonomski sustav donosi novu dimenziju rasta i razvoja sadašnje ekonomije i mogućnost oblikovanja sustava koji će bit ekonomski, ekološki i društveno održiv (Blunck i Werthmann, 2017).

3.4. Aditivne tehnologije/proizvodnja

Aditivna proizvodnja predstavlja automatizirani postupak izrade trodimenzionalnih fizičkih objekata izravno iz 3D-CAD (Trodimenzionalno računalno oblikovanog dizajna (3D-CAD); 3D – trodimenzionalan; CAD- *Computer-Aided Design* – računalno oblikovan dizajn) podataka dodavanjem materijala sloj po sloj (Gebhardt, 2011). Glavni procesi aditivne tehnologije prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Prikaz procesa aditive tehnologije i njihova principa rada (prema Khanpara i Tanwar, 2020).

PROCES	PRINCIP RADA
Ekstruzija materijala (<i>Material extrusion</i>)	Nanošenje rastaljenog materijala sloj-po-sloj
Fotopolimerizacija (<i>Photopolymerization</i>), stereolitografija	Selektivno skrućivajne tekućeg materijala pod utjecajem UV svjetla
Material Jetting	Nanošenje materijala na podlogu i naknadno stvrdnjavanje
Binder Jetting	Selektivna raspodijela vezivnog sredstva u svrhu povezivanja praškastog materijala na podlozi
Praškasta fuzija na postolju (<i>Powder bed fusion</i>)	Stapanje praškastog materijala na podlozi taljenjem selektivnih regija
Direktno nanošenje energije (<i>Direct energy deposition</i>)	Direktno taljenje i stapanje materijala djelovanjem izvora energije (najčešće laserom)
Laminacija slojeva (<i>Sheet lamination</i>)	Vežanje pojedinačnih slojeva materijala

Prvi komercijalni pristup aditivnoj proizvodnji bio je već 1987.godine u kontekstu brze izrade prototipova (*Rapid prototyping, RP*) (Gebhardt, 2011). Izraz „brza izrada prototipova“ koristi se u raznim industrijama u svrhu opisivanja procesa za brzo stvaranje sustava ili djela prije konačnog puštanja na tržište i komercijalizacije. Drugim riječima, naglasak je na brzom stvaranju osnovnog modela tj. prototipa iz kojeg će se proizvesti konačan proizvod (Gibson i sur., 2015). Iako je naziv „brza izrada prototipova“ još uvijek aktualan, u literaturi se češće koriste termini poput aditivni procesi, slojeviti postupci, slojevita proizvodnja, direktno oblikovanje, ali najrašireniji i općeprihvaćeni naziv je 3D printanje (Gebhardt, 2011). Stereolitografija je prva komercijalizirana tehnika 3D printanja razvijena 1986. godine s

principom rada koji se zasniva na skrućivanju tekućeg polimera iznad podloge pod utjecajem ultraljubičastog svjetla (Li i sur, 2020).

Za razliku od uobičajenih tehnika proizvodnje kao što su subtraktivna proizvodnja kod kojih se proizvod obrađuje rezanjem, odnosno tehnikama glodanja ili tokarenja uklanjajući dio materijala iz veće mase, i formativna proizvodnja gdje se proizvod dobiva deformiranjem, odnosno tehnikama lijevanja ili kovanja, aditivna proizvodnja stvara konačan oblik proizvoda dodavanjem materijala i kao takva predstavlja treći stup čitave proizvodne tehnologije (Huang i sur., 2013; Gebhardt, 2011).

Godec i Šercer (2015) navode kako je razvoj aditivne proizvodnje rezultat zajedničke suradnje stručnjaka iz različitih polja znanosti. Interdisciplinarnosti zahtjeva maksimalno iskorištavanje potencijala koje pruža aditivna proizvodnja u cilju pomicanja granica mogućeg razvoja i proizvodnje novih proizvoda.

Pomoću 3D printera moguće je stvoriti vrlo složenije geometrijske strukture koje bi bilo nemoguće proizvesti klasičnim tehnikama subtraktivne i formativne proizvodnje bez korištenja neke od tehnika spajanja (lijepljenje, zavarivanje, pričvršćivanje i sl.). Uz prednost stvaranja gotovo bilokakvog oblika, 3D printanje je posebno interesantno zbog upotrebe širokog spektra materijala, poput plastike, metala, keramike, betona, čokolade, raznih gelova čak i tkivnih stanica i kao takvo je primjenjivo u različitim tehničkim i biotehničkim područjima (Keppner i sur. 2018.).

3.5. Održivost aditivnih tehnika

Održiva proizvodnja se definira kao stvaranje proizvoda korištenjem procesa koji minimaliziraju negativne utjecaje na okoliš, štede energiju i prirodne resurse, sigurni su za proizvođače i potrošače te su ekonomski isplativi. Kao i kod drugih proizvodnih procesa, tako i pri procjeni održivosti aditivne proizvodnje kao jedan od glavnih znanstvenih pristupa je upravo procjena životnog ciklusa (*Life-Cycle assessment, LCA*) (Mani i sur. 2014). LCA je međunarodno prihvaćena metoda za sustavno vrednovanje utjecaja procesa, proizvoda i aktivnosti na okoliš. Ona obuhvaća sve važne emisije i resurse povezane s utjecajem na okoliš i zdravlje kao i životni ciklus proizvoda, robe i usluga od samih resursa, preko proizvodnje, korištenja, recikliranja do samog zbrinjavanja otpada (Peng i sur. 2018).

Prema Peng i sur. (2018) postoje tri dimenzije održivosti (prikazanou Tablici 3.)– ekonomska, društvena i okolišna, koje su riješene takozvanim 6R konceptom (*reduce, recover, recycle, reuse, redesign, remanufacture*). U 6R konceptu, smanjenje (*reduce*) se odnosi na smanjenu upotrebu materijala, energije i ostalih resursa u proizvodnji te na smanjenu emisiju otpada.

Obnovom(*recover*) se smatra postupak sakupljanja proizvoda nakon upotrebe, razvrstavanje i korištenje u sljedećem životnom ciklusu. Recikliranje (*recycle*) uključuje postupak pretvorbe materijala koji bi se inače smatrali otpadom, u nove materijale ili proizvode. Ponovna upotreba (*reuse*) se odnosi na ponovnu upotrebu proizvoda ili njegovih komponenti nakon prvog životnog ciklusa kako bi se smanjila upotreba dodatnih materijala. Redizajn (*redesign*) uključuje stvaranje proizvoda nove generacije redizajnom komponenti ili materijala iz prethodne generacije proizvoda. Ponovna proizvodnja (*remanufacture*) uključuje ponovnu obradu već korištenih proizvoda kako bi se vratili u prvobitno stanje ili novi oblik uz ponovnu upotrebu funkcionalnih dijelova proizvoda (Jawahir i Bradley, 2016).

Tablica3. Sažeti prikaz održivosti aditivne proizvodnje (prema Peng i sur. 2018)

EKONOMSKA	OKOLIŠNA	DRUŠTVENA
Evolucija tržišta	Potrošnja resursa	Nova radna mjesta
Nove primjene	Potrošnja energije	Opća prihvaćenost
Upravljanje lancem opskrbe	Upravljanje otpadom	Kvaliteta proizvodnje
Troškovi proizvodnje	Recikliranje	Etičnost
Troškovi materijala	Kontrola zagađenja	Unapređenje zdravstva
Produktivnost procesa	Emisije procesa	Patentnost

Aditivna proizvodnja smatra se takozvanom „čistom proizvodnjom“ (*Clean production*) i donosi ključne prednosti za okoliš koje se očituju kroz tri glavna aspekta: potrošnju resursa, upravljanje otpadom i kontrolu zagađenja. Glavnina potrošnje resursa se odnosi na električnu energiju koja pokreće sustav te na materijal koji se koristi za ispis (filamenti, polimeri, prahovi i sl.). Iskoristivost materijala korištenjem aditivnih tehnika je oko 97 % čime se maksimalno minimizira količina otpada npr. u odnosu na konvencionalnu subtraktivnu proizvodnju. Subtraktivna proizvodnja stvara veliku količinu otpada te se aditivnom proizvodnjom količina otpada može smanjiti za čak 90 %. Glavninu otpada aditivne proizvodnje čine neočekivana oštećenja te potporne strukture ako ih metoda zahtjeva. U usporedbi s ostalim proizvodnim tehnikama stvara se manje zagađenja jer se najčešće upotrebljavaju netoksični materijali i „zelene“ kemikalije (Peng i sur, 2018.).

Aditivnom proizvodnjom smanjuje se potreba za energetski intenzivnim i zagađujućim proizvodnim procesima. Prednost ove proizvodnje je učinkovitiji i fleksibilniji dizajn proizvoda s boljim performansama, moguća je decentralizirana proizvodnja i smanjena je emisija CO₂ nastalog tijekom proizvodnog procesa čime se direktno utječe na tzv. ugljični otisak (Carbon footprint, CF) (Peng i sur, 2018; Le i sur, 2017). Ugljični otisak definira se kao mjera ukupne količine emisije CO₂ koji je izravno ili neizravno uzrokovan nekom aktivnošću ili se akumulira

tijekom životnog ciklusa proizvoda (Pandey i sur., 2011). Izražava se u ekvivalentima CO₂, a uključuje ciklus od proizvodnog procesa do cijelog lanca opskrbe ekonomskim dobrima i uslugama (Rushforth i sur., 2013). Kao kvantitativan izraz emisije stakleničkih plinova, pomaže u upravljanju procesa emisije i procjeni mjera njihova ublažavanja što pruža mogućnost za okolišnu učinkovitost i smanjenje sveobuhvatnih troškova (Pandey i sur., 2011).

U 2013. godini svjetskotržištheaditivne proizvodnje naraslo je na 3,07 milijardi dolara s godišnjom stopom rasta od 34,9 %. Pojedini ekonomski stručnjaci procjenjuju da će tržište do 2021. narasti na 10,8 milijardi dolara, što ukazuje na to da aditivna proizvodnja ima ogroman ekonomski potencijal. Glavni ekonomski potencijal leži upravo na razlikama aditivne proizvodnje u odnosu na tradicionalne tehnike proizvodnje, posebno u pogledu fleksibilnosti i učinkovitosti što dovodi do evolucije tržišta, mogućnosti novih primjena te smanjenih troškova materijala i proizvodnje (Thiesse i sur., 2015).

Huang i sur. (2013) navode kako se očekuje da će u budućnosti aditivna proizvodnja postati ključna proizvodna tehnologija u održivom društvu. Smatraju da ima potencijal za revolucionizaciju prerađivačke industrije u korist društva kao cjeline. Posebne pogodnosti na društvo se očituju u pružanju visokokvalitetne i ekonomski učinkovite zdravstvene zaštite i njege koja je prilagođena specifičnim karakteristikama i potrebama pojedinca. Taj pristup je relativno širok i kreće se od pružanja dugoročne skrbi pojedinca, preko prehrambenih proizvoda namijenjenih određenoj populaciji pa sve do personaliziranih lijekova i kirurških implantanata (Derossi i sur., 2017). Međutim, zajednički cilj je poboljšanje zdravlja i dobrobiti opće populacije. Suvremeni primjer upotrebe aditivnih tehnika za dobrobit društva vidljiv pojavom krizne situacije uzrokovane novim korona virusom - SARS-CoV-2, koja je utjecala na sve veću primjenu aditivnih tehnika, odnosno 3D ispisa. Prepoznata je primjena 3D printanja zaštitnih maski i vizira za medicinske radnike, ali i potencijal za 3D printanje respiratornih ventila/zalistaka i pribora za dijagnostiku od biokompatibilnih polimernih materijala (Ishack i Lipner, 2020).

3.6. 3D printanje hrane

3D (trodimenzionalno) printanje je pseudonim za aditivne tehnike ili brze prototipove načinjene tehnikom sloj po sloj. U prehrambenom sektoru prvo printanje hrane proveli su znanstvenici Sveučilišta Cornell koristeći printer **Fab@home** koji radi na principu ekstruzije (Liu i sur., 2017). Prema Godoi i sur. (2017) danas se za 3D printanje hrane koriste materijali u obliku tekućina, praha i kultura stanica. U prehrambenoj industriji 3D printanje svoju

primjenu nalazi i za proizvodnju ambalaže u obliku jestivih filmova, izradu plastičnih posuda s pregradama s ciljem zadržavanja plinova i samog okusa proizvoda te kako bi se produljio rok trajanja pakirane hrane i pića. Isprintana 3D hrana može biti zahtjevnog oblika i strukture koja se ne može postići tradicionalnim procesom proizvodnje ili je taj tradicionalni proces neekonomičan. Ovakva vrsta hrane može posjedovati potpuno novu teksturu i okus, te će 3D tehnologija printanja hrane predstavljati obradu ili pripremu hrane u digitalno doba (Yang i sur., 2017).

Primjena 3D tehnologije u prehrambenom sektoru donosi brojne potencijalne prednosti kao što su prilagođeni dizajn hrane, personalizirana hrana, pojednostavljenje lanca opskrbe i proširivanje izbora dostupnih sirovina. Ova tehnologija omogućuje postizanje složenog dizajna hrane koji se ne može postići ručnim radom ili korištenjem kalupa u kulinarstvu i slastičarstvu, a moguća je i personalizacija i digitalizacija nutritivnih i energetskih potreba pojedine osobe sukladno njenom tjelesnom i nutritivnom stanju. 3D printanje hrane svojom blizinom kupcima trebao bi smanjiti troškove pakiranja i distribucije proizvoda te tako pojednostaviti lanac opskrbe. Proširivanje izbora dostupnih sirovina odnosi se na primjenu netradicionalnih prehrambenih sirovina kao što su kukci, biljni materijali bogati vlaknima te primjena nusproizvoda iz prerade biljaka i životinja (Liu i sur., 2017).

3D printeri su do sada pronašli svoju upotrebu u industriji, ali i brojnim restoranima. U *pop-up* 3D restoranima najčešće se koriste printeri koji rade na principu ekstruzije prethodno pripremljene pastozne mase. Primjena 3D printera omogućuje printanje tradicionalne hrane poput pirea krumpira u obliku koralja, kolača i ukrasa na kolačima te printanje hrane u obliku slika, što omogućava vizualnu personalizaciju. Razvijen je i 3D printer koji proizvodi pizzu tako što tijesto, umak od rajčice i sir nastaju otapanjem praha u vodi koja je pričvršćena na materijalni spremnik s materijalom u printeru te ekstruzijom izlaze sastojci određenim redoslijedom. Veliki potencijal primjene 3D printanja hrane prisutan je u konditorskoj industriji gdje su već razvijeni printeri za čokoladu, gumene bombone i bombone printane iz šećera. 3D printanje hrane osobito je važno kod pripreme jela za starije osobe i one s disfagijom (nemogućnost gutanja) zato što omogućuje primjenu specijaliziranih mješavina prahova koji se prilikom printanja stvrdnjavaju, a stavljanjem u usta otapaju. Kao prednost smatra se i dobivanje hrane različitih oblika, boje i okusa koji nalikuju pravoj hrani (Kodama i sur., 2017).

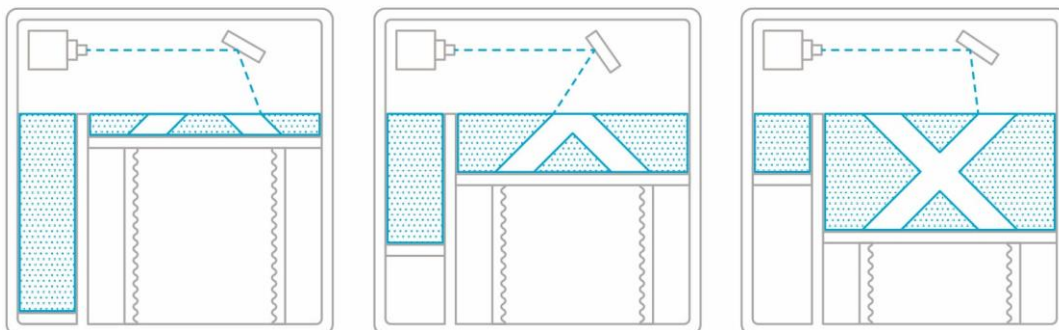
Jedna od mnogobrojnih karakteristika 3D printera je jednostavnost upotrebe (Yang i sur., 2017). Osoba može preuzeti podatke s mreže na računalo te ih dodatno prilagoditi vlastitim preferencijama. Izmijenjene podatke potrebno je poslati na 3D printer koji će izraditi fizički proizvod spreman za daljnju uporabu.

3.6.1. Metode 3D printanja hrane

Svaka upotrebljena sirovina u prehrambenom sektoru printa se jednom od četiri metode 3D printanja hrane: printanje na bazi ekstruzije, printanje selektivnim laserskim sinteriranjem, printanje primjenom vezivnog sredstva ili tintni ispis (Liu, 2017).

3.6.1.1. Selektivno lasersko sinteriranje

Selektivno lasersko sinteriranje (*Selective Laser Sintering*, SLS) je metoda 3D printanja hrane koja koristi snagu lasera za selektivno stapanje čestica praha, sloj po sloj, u konačnu 3D strukturu. Laser skenira presjek površine sloja, selektivno stapa čestice praha i ispušta sloj praha te postupak ponavlja sve dok konačna struktura nije gotova (Slika 3). Preostali prah se uklanja, sakuplja i sprema za sljedeće printanje čime se smanjuje količina nastalog otpada. U prehrambenom sektoru je ova metoda prikladna za praškaste materijale koji se mogu stapati zajedno bez raspadanja materijala tijekom procesa izrade te za izradu jestivih objekata koristeći širok raspon materijala. Najvažnija svojstva materijala koja imaju utjecaj na preciznost i točnost 3D printanja su veličina čestica, tečnost, gustoća i vlažnost praškastog materijala. Ovom metodom mogu se printati šećer, čokolada i masti. Glavna prednost selektivnog laserskog sinteriranja je printanje kompleksne 3D hrane različite strukture, no vrlo je ograničen odabir sirovina i njihova nutritivna vrijednost (Liu i sur., 2017).

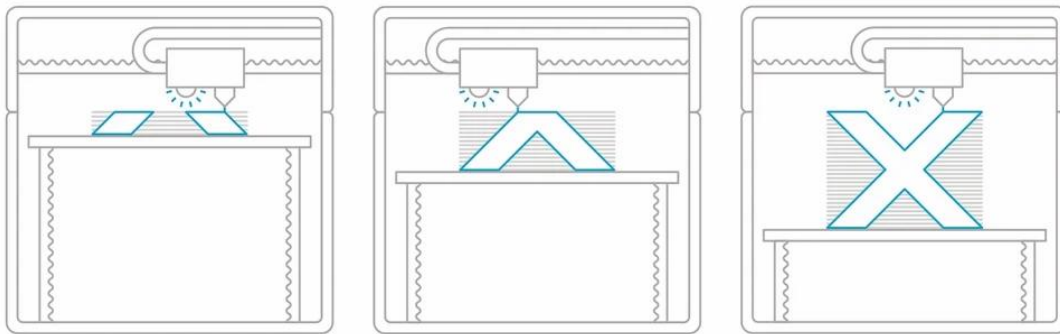


Slika 3. Selektivno lasersko sinteriranje (Anonymus 3)

3.6.1.2. Printanje primjenom vezivnog sredstva

Printanje primjenom vezivnog sredstva (*Binder Jetting Printing*) je metoda kod koje se praškasti materijal nanosi sloj na sloj, pri čemu se između svakog sloja materijala izbacuje sloj vezivnog sredstva koji spaja prethodni i naknadni sloj materijala (Liu i sur., 2017) (Slika 4). Ovakva metoda omogućava tvorbu velikog broja kompleksnih 3D struktura različitog okusa, boje i teksture načinjenih od praškastih materijala povezanih nekim vezivnim sredstvom. Najčešće praškaste sirovine za 3D printanje hrane ovom metodom koriste škrob,

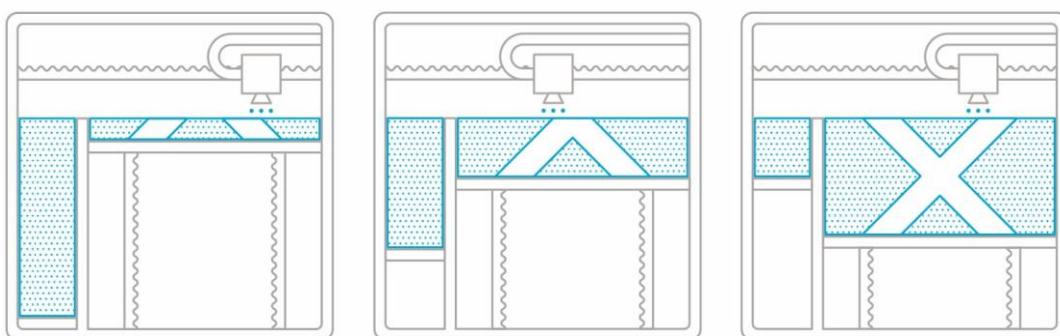
šećer i proteini. Vezivno sredstvo upotrebjeno za proizvodnju 3D hrane mora imati odgovarajuću viskoznost, površinsku napetost, gustoću te biti prikladno za mlaznice.



Slika 4. Printanje primjenom vezivnog sredstva (Anonymus 3)

3.6.1.3. Tintni ispis

Tintni ispis (*Inkjet Printing*) (Slika 5) je beskontaktna reprografska tehnika koja digitalne podatke s računala raspršuje na podlozi kroz kapljice tinte (Li i sur., 2020). Razlikuju se dvije podmetode tintnog ispisa: kontinuirani mlazni ispis i ispis na zahtjev. Kod kontinuiranog mlaznog ispisa tinta konstantno izlazi kroz vibrirajuću piezoelektričnu glavu konstantnom frekvencijom, a kod ispisa na zahtjev tinta se izbacuje iz glave pod pritiskom napreznog ventila (Liu i sur., 2017). Ova metoda omogućuje velik izbor materijala, brz ispis te jako dobru kvalitetu ispisa (Liu i sur., 2017), gdje je razlučivost od 50 do 500 μm (Li i sur., 2020). Materijali koji se koriste za tintni tisak moraju biti niske viskoznosti te oni ne mogu održavati čvrstoću 3D strukture, stoga se koriste uglavnom za printanje 2D slika na površini hrane, kolača i pizze.

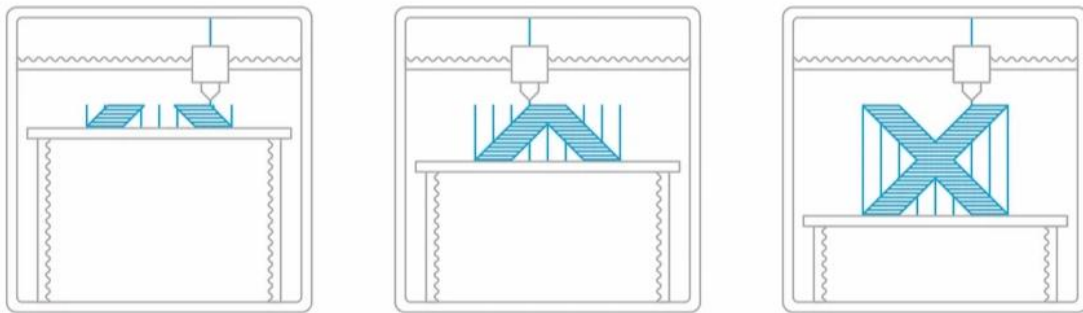


Slika 5. Tintni ispis (Anonymus 3)

3.6.1.4. Printanje na bazi ekstruzije

Printanje na bazi ekstruzije (Slika 6) poznato je i pod imenom modeliranje taložnim srašćivanjem (*Fused Deposition Modelling, FDM*) (Liu i sur., 2017). Ova metoda koristila se prvo za izradu prototipova plastike koristeći pokretne mlaznice za ekstrudiranje vruće

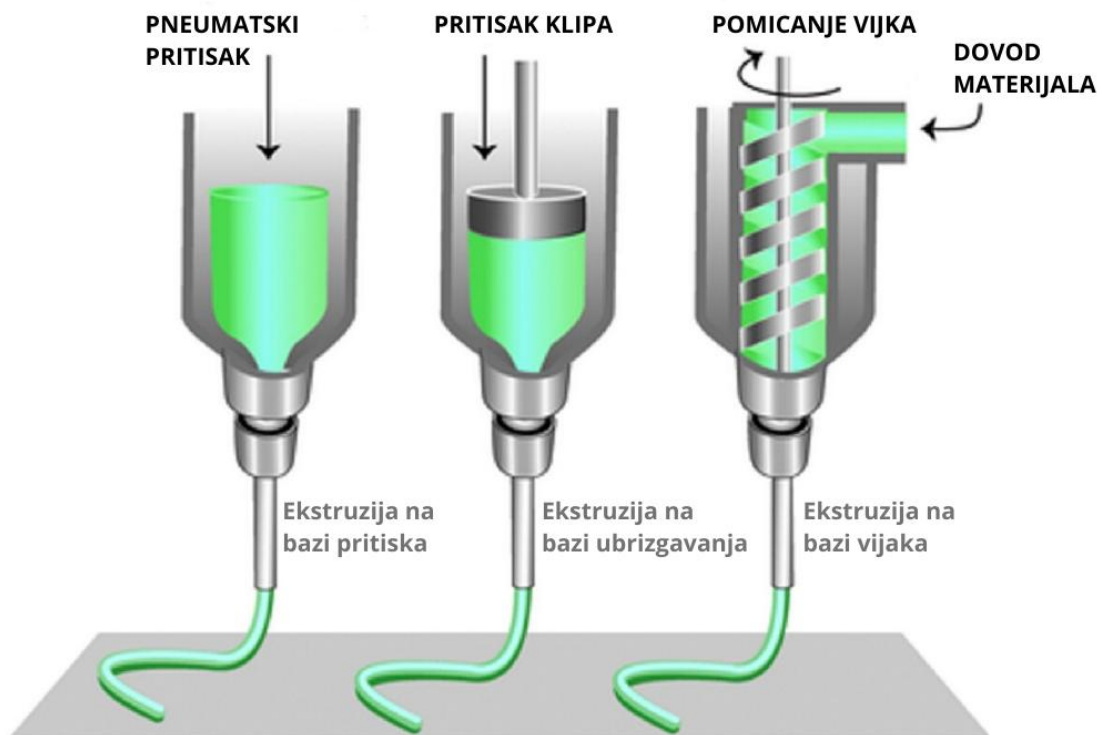
topljenog filameta polimera stapajući ga s prethodnim slojem uslijed hlađenja. Nekoliko godina kasnije svoju je primjenu pronašla i u prehrambenom sektoru gdje se pripremljena sirovina – tinta, unosi u ekstruder (cilindar) te se djelovanjem sila pritiska s hidrauličkog klipa istiskuje iz mlaznice na podlogu. Broj slojeva, njihov položaj i usmjerenje unaprijed je određeno 3D modelom. Primijenjeni materijal u procesu ekstruzije ima važnu ulogu kod povezivanja slojeva, jer mehanizam vezanja može biti pod kontrolom reoloških svojstava, hlađenja materijala ili formiranja hidrokolidnih gelova uslijed ekstruzije (Godoi i sur., 2016). Za preciznost i točnost printanja te konačni izgled proizvoda odgovorno je nekoliko faktora: ekstruzijski mehanizam, svojstva materijala (reološka svojstva, sposobnost geliranja, točka taljenja, faktori obrade i prijelaz topline), procesni faktori (visina mlaznice, brzina ekstruzije) te naknadni tretman proizvoda (Liu i sur., 2017).



Slika 6. Printanje na bazi ekstruzije (Anonymus 3)

3D printanje hrane primjenjuje 3 mehanizma ekstruzije (Slika 7): ekstruzija na bazi vijaka, ekstruzija na bazi pritiska i ekstruzija na bazi ubrizgavanja. Kod ekstruzije na bazi vijaka prehrambeni materijal se stavlja u dovod uzorka i transportira se u mlaznicu pomicanjem vijaka, a kod primjene ovakvog mehanizma prehrambeni materijal se može kontinuirano dovoditi u spremnik te tako omogućiti kontinuirani ispis. Prehrambeni materijal visoke viskoznosti i jake mehaničke čvrstoće nije pogodan za ekstruziju na bazi vijaka. Uslijed ekstruzije na bazi pritiska dolazi do potiskivanja prehrambenog materijala kroz mlaznicu, za što je pogodan prehrambeni materijal niske viskoznosti ili tekućine. Posljednji mehanizam ekstruzije na bazi ubrizgavanja se primjenjuje za prehrambeni materijal visoke viskoznosti i visoke mehaničke čvrstoće što omogućuje izradu složenih 3D struktura visoke rezolucije. Glavni nedostatak posljednja dva mehanizma je nemogućnost kontinuiranog ispisa hrane (Liu i sur., 2017). Svojstva prehrambenog materijala kao što su vlažnost, reološka svojstva, specifični mehanizam umrežavanja te toplinska svojstva važni su za 3D printanje i konačan oblik proizvoda, a najčešće se za printanje na bazi ekstruzije koriste čokolada, sir, mesni pire te mekani materijali poput tijesta. Širok odabir početne sirovine te jednostavnost upotrebe 3D printera na bazi ekstruzije ističu se kao glavne prednosti ove metode, no ona ne omogućava

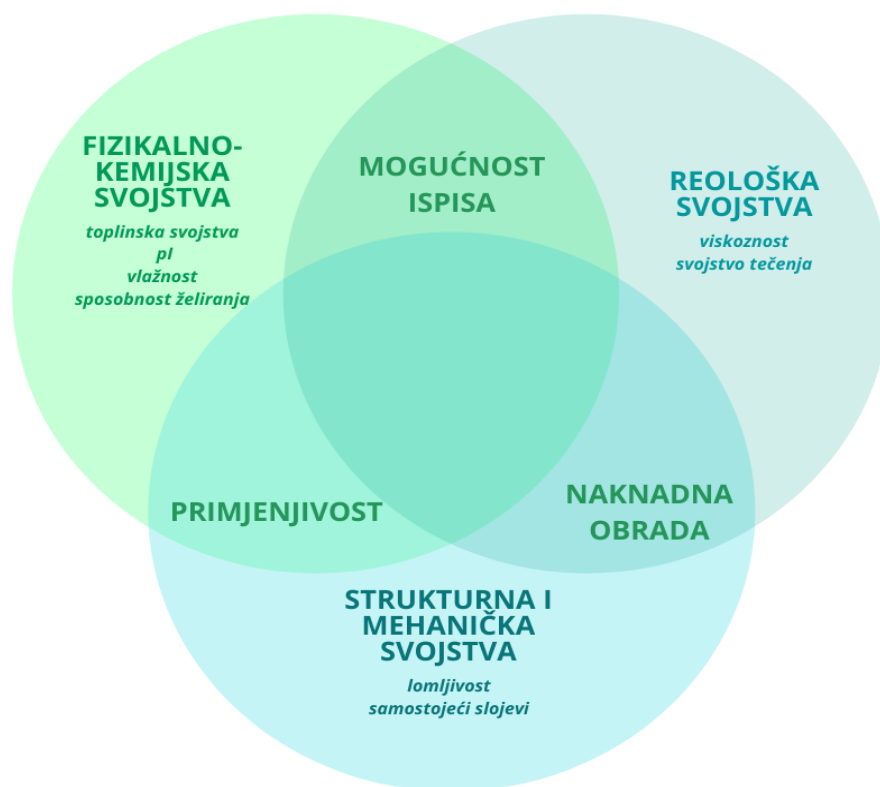
produkciju kompleksnih dizajna te nailazi na probleme u održavanju 3D strukture u naknadnom procesiranju hrane (Liu i sur., 2017).



Slika 7. Prikaz mehanizama ekstruzije (prema Li i sur, 2020)

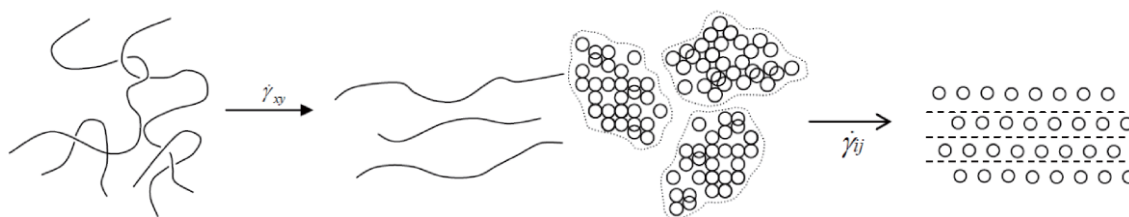
3.6.2. Materijali za 3D printanje hrane

Kod odabira prehrambenog materijala za oblikovanje 3D struktura hrane potrebno je zadovoljiti svojstva prikazana kroz tri kritička čimbenika: mogućnost ispisa, primjenjivost i naknadna obrada. Mogućnost ispisa podrazumijeva rukovanje i ispisivanje prehrambenog materijala koji nakon ispisa zadržava zadanu strukturu. Primijenjeni materijali moraju zadovoljiti određena svojstva; tekući materijali određenu viskoznost i reološka svojstva, materijali za ekstruziju moraju sadržavati određene mehanizme umrežavanja i određena toplinska svojstva (temperatura taljenja i prijenos topline), a praškasti materijali zadovoljavajuća svojstva raspodjele veličine čestica, nasipne gustoće te vlažnosti. Primjenjivost 3D printane hrane odnosi se na sposobnost printanja kompleksnih struktura i tekstura uz što je moguće primijeniti nutritivno vrijedne materijale čime 3D printana hrana dobiva dodatnu vrijednost. Za ovaj čimbenik važnu ulogu imaju svojstva materijala. Naknadna obrada je posljednji čimbenik koja u idealnom slučaju označava otpornost proizvoda na promjene oblika (Godoi i sur., 2016). Mogućnost ispisa, primjenjivost i naknadna obrada mogu se zadovoljiti kontrolom fizikalno-kemijskih, reoloških, strukturnih i mehaničkih svojstava prehrambenih materija kako je prikazano na Slici 8.



Slika 8. Usporedba između svojstava materijala i faktora koje treba uzeti u obzir za oblikovanje 3D strukture hrane (prema Godoi i sur., 2016)

Temeljni mehanizam za uspješno 3D printanje hrane uvijek sličan, bez obzira na korištene dodatke. U fazi prije ekstruzije pripremljeni materijal mora biti tečan što se osigurava korištenjem prehrambenog materijala male veličine čestica, a nakon ekstruzije isprintana hrana mora biti u stanju oduprijeti se strukturnoj deformaciji. To se može postići primjenom metoda poput biotiska, UV svjetla, prskanja kalcijevim ionima ili primjenom topline. S obzirom na navedene zahtjeve materijala za printanje, potrebno je, ako je to moguće, proizvoditi pseudoplastične prehrambene tinte (Tan i sur., 2018). Njihova primjena omogućuje visoku moć smicanja u mlaznici te nesmetan prolaz materijala kroz mlaznicu do podloge, a isprintani proizvod nema više moć smicanja te se zadržava isprintani oblik. U prehrambenom materijalu pseudoplastičnost se javlja uslijed opuštanja primjerice dugačkih lanaca (prehrambenih vlakana) ili slojevitim poravnanjem koncentriranih disperzija ili emulzija, što je prikazano na Slici 9. U fazi prije opuštanja lanaca ili poravnanja emulzija/disperzija između molekula nalazi se veliki broj intermolekularnih sila (Van der Waalsovih sila, vodikovih veza i elektrolitskih interakcija), no djelovanjem vanjskih sila smicanja smanjuju se te interakcije, molekule se poravnavaju uslijed čega dolazi do smanjenja sudara između čestica. Na ovaj način se smanjuje viskoznost što utječe na pseudoplastičnost.



Slika 9. Pseudoplastičnost kod dugačkih lanaca (lijevo) i disperzija ili emulzija (desno) (Tan i sur., 2018)

Za 3D printanje hrane koriste se tekući, polutekući (pastozni) i praškasti oblici prehrambenih materijala, a moguća je primjena i višekomponentnih sustava s različitim udjelom proteina, ugljikohidrata i masti.

Proteini su građeni od aminokiselina koje sadrže pozitivno ili negativno nabijene funkcionalne skupine. Ovisno o izoelektričnoj točki (pI) uslijed promjene pH vrijednosti oni mijenjaju svoju agregaciju i svojstva, a vrlo su važni zbog dobivanja novih tekstura u kombinaciji s različitim polisaharidima. Neki proteini, odnosno peptidi su prirodni izvor hidrokoloida (Godoi i sur., 2016). Vancauwenberghe i sur. (2017) ističu djelovanje proteina kao površinski aktivnih tvari koje potiču stvaranje i održavanje pjene u prehrambenim proizvodima poput kolača. Enzimi se u velikom broju namirnica koriste kao prehrambeni aditivi, a posebno važnu ulogu imaju u proizvodnji 3D printanog mesa (Godoi i sur., 2016).

Masti nastaju reakcijom molekule glicerola i viših masnih kiselina pri čemu nastaju trigliceridi, a vrlo su važni kod 3D printanja mesa i čokolade. Sastav i struktura triglicerida bitno utječe na formulaciju materijala pogodnih za 3D printanje hrane te krajnja funkcionalna svojstva materijala (talište, indeks čvrste masti, struktura kristala) (Godoi i sur., 2016).

Ugljikohidrati su organske molekule građene od ugljika, kisika i vodika te predstavljaju glavni izvor energije. Oni se dijele na jednostavne ugljikohidrate (monosaharide i disaharide) i složene ugljikohidrate (polisaharide). Polisaharidi, primjerice škrobovi, se mogu koristiti bez modifikacija ili dodatka vode ili nekog želirajućeg agensa (Godoi i sur., 2016). Škrob je skladišni polisaharid sastavljen od amiloze (linearnog polimera povezanog (1→4)-glikozidnim vezama) i amilopektina (razgranate molekule povezane α-(1→4)-i α-(1→6)-glikozidnim vezama), a skladišti se u sjemenkama, gomoljima i korijenju biljaka (Bertoft, 2017). U prehrambenoj industriji nalazi široku upotrebu kao zgušnjivač, gelirajuće sredstvo, vezivno i stabilizirajuće sredstvo (Zheng i sur., 2019). Za 3D printanje vrlo važno svojstvo škroba je želatinizacija do koje dolazi dodatkom vode i djelovanjem povišene temperature. Prilikom želatinizacije intermolekulske veze u škrobu pucaju što omogućuje vezanje vode i bubrenje. Šećer u kombinaciji sa škrobom može imati važnu ulogu kod formiranja 3D oblika proizvoda, jer šećer djeluje kao plastifikator (Godoi i sur., 2016).

Hidrokoloidi su hidrofilni polimeri porijeklom iz biljaka, životinja i mikroorganizama (prirodni polimeri) ili su dobiveni sintetskim putem (sintetski polimeri) (Godoi i sur., 2016; Li i sur., 2020). Oni tvore koloidne disperzije u vodi, a prilikom pripreme prehrambenog materijala za 3D printanje oni se mogu kombinirati s različitim sastojcima hrane (Godoi i sur., 2016). Polimerni hidrogelovi definiraju se kao 3D umrežena mreža fleksibilnih polimernih lanaca koja sadrži veliku količinu vode, ali posjeduje svojstva krutih tvari. Nastala 3D mreža omogućuje zadržavanje tekućine kako bi se održala gel faza sličnih karakteristika mekih tkiva. U točki nastanka gela, polimer ili otopina mogu iznenada prijeći iz viskozne tekućine u čvrsto stanje što je važno svojstvo za 3D printanje hrane. Izvori prirodnih polimera mogu biti polisaharidi, glikoaminoglikani i proteini, odnosno polipeptidi. Neki primjeri prirodnih polimera iz polisaharida su agar, alginat, karagenan, metilceluloza, citozan, dekstran, gelan guma, pektin i pululan; iz glikoaminoglikana su heparin i hijaluronska kiselina; te iz proteina/polipeptida albumin, kazein, kolagen, elastin, želatin i drugi (Li i sur., 2020). Na primjeru pektina može se prikazati iskorištenje otpada prehrambene industrije što dodatno pridonosi održivom razvoju. Pektinske tvari čine jednu trećinu primarne stanične stijenke voća i povrća, a najviše ga sadrže kora naranče i limuna (3-5 %) te trop jabuke. Navedeni izvori, ujedno nusproizvodi prehrambene industrije, koriste se i za komercijalnu proizvodnju pektina (Santos i sur., 2020). Prema vrstama metoda sinteze sintetskih polimera, hidrogelovi se svrstavaju u četiri skupine: homopolimerni hidrogelovi koji se sastoje od umrežene hidrofilne monomerne jedinice; kopolimerni hidrogelovi koji nastaju umrežavanjem dviju ko-monomernih jedinica (uključujući jednu hidrofilnu); multipolimeri hidrogelovi koji nastaju tri ili više ko-monomerne jedinice; te unošenjem polimera gela nastalog formiranjem prve mreže nakon čega se ubacuje u drugi monomer gdje uslijed novog zaplitanja nastaje druga mreža polimera (Li i sur., 2020). Primjeri sintetskih polimera su: PAA (poliakrilamid), PVA (polivinil alkohol), PEG (polietilen glikol) i dr.

3.6.2.1. Polivinil alkohol (PVA)

Polivinil alkohol (PVA) je sintetski materijal koji se može koristiti u aditivnim tehnikama, a uglavnom se sintetizira polimerizacijom vinil acetata. Kemijska struktura mu je relativno jednostavna s bočnim hidroksilnim skupinama. Ovaj linearni polimer topiv je u vodi te je kemijski inertan u mnogim organskim otapalima (Li i sur., 2020). PVA je prihvaćen i često korišten materijal u farmaceutskoj industriji jer je komercijalno lako dostupan, u vodi netoksičan i pogodan za 3D printanje (Matijašić i sur., 2019).

3D printanjem moguće je ispisati kapsule s membranama različitih debljina odnosno doznih oblika koji omogućuju kontrolirano otpuštanje. Takve kapsule mogu se jednostavno puniti različitim praškastim sastojcima bez posebnih priprema filamenata za 3D printanje. Dozni

oblici određeni su svojom geometrijom i kombinacijom različitih dijelova kapsule te utječu na profil otpuštanja čime se postiže odgoda, puls ili trenutno oslobađanje punila (npr. lijekova) (Matijašić i sur., 2019).

3.6.2.2. Škrob

Škrob je netopivi polisaharid, glukan odnosno polimer D-glukoze povezane α -(1→4)-i α -(1→6)-glikozidnim vezama. U višim biljkama, škrob se sintetizira u plastidima fotosintetskih (listovi) i nefotosintetskih stanica (stabljika, gomolj, sjemenke) te kao glavni skladišni ugljikohidrat ima važnu ulogu tijekom životnog ciklusa biljaka. Biljke s visokim udjelom škroba su žitarice (riža, pšenica, kukuruz, ječam itd.) i gomoljaste biljke (krumpir, batat i sl.) (Bertoft, 2017). U ljudskoj prehrani škrob ima važnu ulogu i predstavlja osnovni izvor energije velikog djela svjetske populacije (Dupuis i Liu, 2019). Strukturno, škrob se sastoji od dva polimera glukoze, amiloze i amilopektina koji zajedno tvore netopive granule s unutarjom lamelarnom strukturom tj. granule sadrže naizmjenične slojeve semi-kristalnog amilopektina i amorfne amiloze. Amilopektin čini glavnu komponentu škrobne granule s udjelom oko 75 %, i predstavlja veliku, razgranatu molekulu u kojoj su u ravnom dijelu lanca molekule D-glukoze povezane α -(1→4)-, a u točkama grananja α -(1→6)-glikozidnim vezama. S druge strane, amiloza je linearan polimer u čijoj su strukturi molekule D-glukoze povezane α -(1→4)-glikozidnim vezama (Bertoft, 2017; Huang, 2018). Zbog svoje granularne strukture, nativni škrob se u hladnoj vodi može dispergirati, ali ne i otopiti. Da bi se dobila otopina, granule škroba moraju biti hidrirane i zagrijane iznad temperature želatinizacije. Hidracijom granule škroba bubre, dok zagrijavanjem iznad temperature želatinizacije granule pucaju te se oslobađaju komponente amilopektina u obliku uzvojnica zbog svoje visoke molekulske mase i razgranatosti te amiloze koje se agregiraju i stvaraju hidrokolojni gel (Huang, 2018). Hidrokolojni gelovi na bazi škrobova predstavljaju najdostupniji i ekonomski najisplativiji materijal. Formulacijom sustava hidrokolojnih gelova sa škrobom i funkcionalnim komponentama predstavlja rastući trend kako u prehrambenom, tako i u neprehrambenom sektoru. Biopolimerni materijali, poput škroba, privukli su pažnju zbog novih tehnologija poput 3D printanja, budući da je s njima mnogo lakše raditi tijekom obrade, kompatibilni su za upotrebu u hrani, lijekovima ili kozmetici, netoksični su i bez mirisa (Torres i sur., 2020).

Sadržaj škroba u zrnu kukuruza je 73 % što ga čini glavnim ugljikohidratom samog zrna. Nativni kukuruzni škrob sadrži 75 % amilopektina i 25 % amiloze. Ovisno o vrsti kukuruza, taj omjer može varirati te škrobovi različitih vrsta kukuruza razlikuju se s obzirom na morfološka, reološka, funkcionalna i termička svojstva. Kukuruzni škrob široko je korišten u prehrambenoj industriji kao zgušnjivač, sredstvo za hidrokolojni geliranje, punilo te sredstvo za

zadržavanje vode (Zheng i sur., 2019). Temperatura želatinizacije nativnog kukuruznog škroba je 70-75 °C (Xing i sur, 2018).

Gomolj krumpira sadrži 75-80 % škroba koji sadrži 20-33 % amiloze dok ostatak čini amilopektin što ovisi o samoj vrsti krumpira i proizvedenih kultivara. Granule nativnog krumpirovog škroba su relativno velike s rasponom do 110 µm te je temperatura želatinizacije niža u odnosu na kukuruzni škrob i iznosi 64-67 °C (Dupuis i Liu, 2019; Przetaczek-Rožnowska, 2017). U prehrambenoj industriji, nativni krumpirov škrob se koristi kao zgušnjivač, sredstvo za geliranje te se upotrebljava u postupcima inkapsulacije. Sposobnost stvaranja hidrokolidnih gelova i pastoznih masa predstavlja glavnu tehnološku primjenu krumpirova škroba, a očituje se u stvaranju viskoznih masa na nižim temperaturama (u odnosu na kukuruzni škrob) kojima se viskoznost povećava hlađenjem (Dupuis i Liu, 2019). Prednost u korištenju krumpirova škroba je mogućnost rekuperacije kao otpadnog produkata pri preradi krumpira (Torres i sur., 2020).

Osim nativnih škrobova, široku primjenu imaju i modificirani škrobovi. Modifikacija nativnog škroba može biti fizikalna, kemijska ili enzimaska u svrhu dobivanja škrobova spromijenjenim svojstvima. Najzastupljenija je kemijska modifikacija koja uključuje postupke kemijske hidrolize, oksidacije, umrežavanja, esterifikacije ili eterifikacije. Kemijskim postupcima modifikacije dobivaju se škrobovi koji imaju nižu temperaturu želatinizacije, tvore paste niže viskoznosti i veće prozirnosti te tako modificirani škrobovi imaju smanjenu tendenciju tvorbe stabilnih hidrokolidnih gelova u odnosu na nativni škrob (Huang, 2018).

3.6.2.3. Agar

Agar je biopolimer dobiven ekstrakcijom, pročišćavanjem, izbjeljivanjem i sušenjem iz crvenih morskih algi (Holland i sur., 2018).

Strukturno se sastoji od β-D-galaktopiranoza povezanih α-(1→3)-glikozidnom vezom i 3,6-anhidro-α-L-galaktopiranoza povezanih α-(1→4)-glikozidnom vezom. Osnovne gradivne komponente agara su agarozna i agaropektin. Agarozna je linearna, neutralna komponenta koja posjeduje sposobnost stvaranja hidrokolidnog gela, a agaropektin je razgranata, negelirajuća komponenta koja je zbog prisutnosti glukuronske ili piruvatne kiseline te sulfatnih estera na bočnim lancima blago kisela (Holland i sur., 2018).

Agar nije topljiv u hladnoj vodi te ga je potrebno prije upotrebe dispergirati u otapalu zagrijanom na temperaturu iznad 85 °C (Alba i Kontogiorgos, 2019). Prilikom otapanja dolazi do lančanog pucanja veza u polimeru te dolazi do nastanka nasumične konfiguracije zavojnice. Nakon hlađenja jednostruki lanci agara tvore dvostruke uzvojnice koje daljnjim sakupljanjem tvore hidrokolidni gel (Holland i sur., 2018). Nastali hidrokolidni gel je

stabilan, ne bubri pri konstantnoj temperaturi i ne otapa se bez zagrijavanja na 65 °C. Mehanizam geliranja agara vezan je uz agarozu, odnosno prilikom hlađenja dolazi do stvaranja intermolekulskih vodikovih veza i fizičkog preplitanja anhidridnih mostova s pojedinim molekulama što dovodi do stvaranja dvostruke uzvojnice (Li i sur., 2020). Viskoelastična svojstva agara ovise o njegovoj molekularnoj masi i koncentraciji pripremljene otopine (Li i sur., 2020). Agar posjeduje veliku moć geliranja te već pri niskim koncentracijama od 0,1 do 0,2 % otopina počinje gelirati. Temperatura želiranja agara karakteristična je zato što se nalazi ispod temperature točke tališta, pri temperaturi od 33 do 45 °C (Alba i Kontogiorgos, 2018).

Agar svoju primjenu nalazi u pekarskoj, slastičarskoj i konditorskoj industriji gdje kod formiranja bombonskih proizvoda omogućuje geliranje bez visokih koncentracija šećera. Dodatkom šećera mijenjaju se reološka svojstva, odnosno nastaje hidrokolidni gel veće snage s višim temperaturama želiranja. Osim šećera agar se može kombinirati i s ostalim sredstvima za želiranje - polisaharidima (Alba i Kontogiorgos, 2018). Osim direktne primjene u konditorskoj industriji, hidrokolidi imaju veliki potencijal za primjenu u aditivnim tehnikama odnosno 3D printanju. 3D printanje fluidnog hidrokolidnog gela agara uz primjenu mikrovalova omogućuje stvaranje struktura različitih tvrdoća zagrijavanjem i hlađenjem mlaznice prilikom ispisa. Ovakav način ispisa može omogućiti različitu jakost hidrokolidnog gela čija primjena osim u prehrambenoj industriji ima potencijal i u biomedicinskom sektoru (Holland i sur., 2018).

3.7. Usporedba konvencionalnih i nekonvencionalnih metoda ekstrakcije

Ekstrakcija je tehnološka operacija potpunog ili djelomičnog odjeljivanja smjese tvari koje imaju različiti topljivost u različitim otapalima (Azwardia, 2015). Predstavlja učinkovitu i brzu metodu za razdvajanje i koncentriranje tvari. Nakon ekstrakcije, dobivamo smjesu koju je potrebno dodatno obraditi, u većini slučajeva je to uklanjanje otapala koje je moguće provesti grijanjem, destilacijom, uparavanjem, kristalizacijom, liofilizacijom ili nekom drugom, prikladnijom operacijom (Blekić i sur., 2011). Zbog jedinstvenosti materijala (najčešće biljni materijali), ne postoji univerzalna metoda ekstrakcije. Metode ekstrakcija možemo podijeliti na konvencionalne i nekonvencionalne metode. Konvencionalne metode se koriste već desetljećima, a jedne od značajnijih su maceracija, infuzija, perkolacija, dekokcija i *Soxhlet* ekstrakcija. Zbog velike potrošnje energije, vremena i otapala konvencionalnih metoda razvijene su brojne nekonvencionalne metode ekstrakcije, prvenstveno zbog uštede vremena i resursa. (Mutalib, 2015; Azwanida, 2015). Pojedine nekonvencionalne metode slijede trend netoplinskih procesa obrade i ekološke prihvatljivosti pa se često nazivaju „zelene ekstrakcije“ (*Green Extraction*). U njih se ubrajaju ultrazvučna ekstrakcija, mikrovalna ekstrakcija, ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem, ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem, superkrična i subkrična ekstrakcija (Putnik i sur., 2018).

3.7.1. Konvencionalne metode ekstrakcije

Maceracija je jedna od najstarijih metoda ekstrakcije i široko je prihvaćena te se koristi u proizvodnji vina i biljnih ekstrakata. Postupak se provodi potapanjem usitnjenog biljnog materijala u otapalo (voda, etanol, biljna ulja) na sobnoj temperaturi nekoliko dana ili tjedana uz često miješanje. Završna obrada maceracije je uklanjanje biljnog materijala filtracijom. Infuzija i dekokcija slijede isti princip kao i maceracija, samo kod infuzije postupak traje kraće i biljni materijal se prelijeva vrućim otapalom, najčešće vodom (pr. priprema čaja). Kod dekokcije, biljni materijal se potapa u otapalo i kuha dulje vrijeme u odnosu na infuziju. To je pogodna metoda za ekstrakciju termostabilnih komponenata iz tvrdih biljnih materijala (pr. korijen ili kora). Perkolacija je metoda koja se provodi u perkolatoru (uređaj za perkolaciju). Za razliku od maceracije, kod perkolacije usitnjeni biljni materijal se ne potapa u otapalo, već zagrijano otapalo polagano kapa i prolazi kroz biljni materijal prilikom čega dolazi do ekstrakcije (Azwanida, 2015). To su najlakše i najjednostavnije metode dobivanja ekstrakata, međutim, veliki problem tih metoda je količina nastalog organskog otpada i metode njegova zbrinjavanja. Vrsta i količina otapala uz temperaturu procesa igraju ključnu ulogu u efikasnosti ovih procesa.

Soxhlet ekstrakcija predstavlja proces kontinuirane ekstrakcije vrućim otapalom. Ekstrakcija se provodi u Soxhlet uređaju tako da se usitnjeni uzorak stavlja u poroznu čahuru koja se umeće u uređaj, a ekstrakcijsko otapalo se zagrijava u donjoj tikvici te isparava. Pare otapala kondenziraju se u hladilu na vrhu aparata te kaplju kroz čahuru s uzorkom pri čemu dolazi do ekstrakcije. Kada se sifonska cijev napuni otapalom, otapalo se iz gornjeg dijela aparata prelijeva u donju tikvicu gdje se dalje zagrijava i ciklus se nastavlja. Iako je ova metoda vrlo jednostavna i učinkovita te zahtjeva manje otapala i uzorka od maceracije, ima neke ozbiljne nedostatke. Kao najveći nedostatak je upravo vrijeme trajanja ekstrakcije (6-12 sati) što dovodi do velikog utroška energije potrebne za zagrijavanje. Organska otapala koja se koriste (najčešće heksan) su lako zapaljiva, opasna, potencijalno toksična i visoke čistoće. Soxhlet ekstrakcija se ne smatra ekološki prihvatljivom zbog velikog utroška energije i visokog potencijala zagađenja okoliša (Azwanida, 2015; Shahid i sur., 2016).

3.7.2. Nekonvencionalne (alternativne) metode ekstrakcije

Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija (*Ultrasound assisted extraction, UAE*) je razvijena kao obećavajuća metoda koja ispunjava značajke održivosti. Svestrana je, jednostavna, sigurna, brza, ekološki prihvatljiva i isplativa zbog smanjenja utroška vremena, energije i organskih otapala (Ameer i sur., 2017). Pod pojmom ultrazvuka, podrazumijeva se zvučni val s frekvencijama višim od praga osjetljivosti ljudskog sluha (16-18 kHz). UAE koristi ultrazvuk visokog intenziteta frekvencije 20 do 100 kHz te visoke razine snage u rasponu od 10 do 1000 W/cm². Zbog velike snage kojom djeluje na materijal, uzrokuje fizička oštećenja tkiva i određene kemijske reakcije. Prolaskom kroz tekući medij, utjecajem ultrazvuk visokog intenziteta dolazi do snažne oscilacije veličine mjehurića i dolazi do uzastopne ekspanzije i kompresije. Kada mjehurić dosegne kritičnu veličinu, dolazi do implozije koja stvara mikropodručje s ekstremno visokom temperaturom (5000K) i visokim tlakom. Taj fenomen je poznat kao kavitacija (Panda i Manickam, 2019). Uslijed djelovanja kavitacije na stanični materijal, dolazi do pucanja stanične stijenke što omogućava veće prodiranje otapala u materijal i dolazi do direktnog kontakta sa sadržajem stanice što rezultira povećanim prijenosom mase čime se ubrzava ekstrakcija i povećava njena efikasnost. UAE možemo povećati ekstrakciju polifenola, antocijana, aromatskih tvari, ulja, funkcionalnih spojeva i sl. (Panda i Manickam, 2019).

Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (*Microwave-assisted extraction, MAE*) razvijena je kao alternativna metoda konvencionalnim postupcima ekstrakcije s ciljem poboljšanja učinkovitosti i smanjenja vremena ekstrakcije te manjom potrošnjom otapala (Jovanović i sur., 2017). Mikrovalovi predstavljaju neionizirajuće elektromagnetsko zračenje s frekvencijom od 300 MHz do 300 GHz. Mikrovalovi prenose energiju na otopinu te se

zagrijava dvostrukim mehanizmom; rotacijom dipola i ionskom provodnošću (Shahid i sur., 2016). Tijekom MAE, mikrovalovi simultano zagrijavaju cijeli volumen uzorka i oštećuju vodikove veze potičući rotaciju dipola. Kretanje otopljenih iona povećava penetraciju otapala u matriks i time se potiče otapanje. Glavne prednosti MAE su značajna redukcija vremena potrebnog za ekstrakciju, smanjena količina otapala, povećan prinos ekstrakcije te jednostavnost i ekonomičnost čime predstavlja ekološki prihvatljivu tzv. „zelenu“ ekstrakciju (Jovanović i sur., 2017).

Ekstrakcija superkritičnim fluidima (*Supercritical fluid extraction, SFE*) je razvijena kao pogodna „zelena“ metoda ekstrakcije, posebno u slučaju čvrstih biljnih matrica i kao pogodna metoda za iskorištavanje nusprodukata industrije koji nemaju komercijalnu vrijednost. Superkritični fluid (SF) može se definirati kao tekućina koja postoji u fazi koja ima svojstva i tekućine i plina iznad svoje karakteristične kritične temperature i tlaka. Kritičnim tlakom (P_c) se smatra minimalna količina tlaka koja je potrebna da se plin prevede u tekuće stanje na jedinstvenoj kritičnoj temperaturi, dok je kritična temperatura (T_c) ona pri kojoj plin ne postaje tekuć sve do primjene dodatnog tlaka (Ameer i sur., 2017). SF imaju tipičnu gustoću tekućine, viskoznost sličnoj plinovima, a difuzivnost između tekućine i plina. Zbog svoje niske viskoznosti i velike difuzivnosti SF posjeduju iznimna transportna svojstva tijekom ekstrakcije (Shahid i sur., 2016). Najčešće korišteno otapalo za SFE je CO_2 koji pri temperaturi iznad $31,1\text{ }^\circ C$ i tlaka 7380 kPa prelazi u superkritično stanje i postaje superkritični CO_2 (SC- CO_2). SC- CO_2 je izvrsno otapalo za nepolarne analite, lako je dostupan, niske je cijene i ima nisku toksičnost. Modifikacijom, poput dodavanja metanola ili etanola omogućena je i ekstrakcija polarnih spojeva, a s obzirom na to da isparava na sobnoj temperaturi, dobivaju se koncentrirani ekstrakti (Azwanida, 2015). SFE omogućuje brzu ekstrakciju s visokim prinosima, ekološki je prihvatljiva i ne koristi organska otapala, ili je njihova potrošnja minimalna (Shahid i sur., 2016).

Subkritična vodena ekstrakcija (*Sub-critical water extraction, SCWE*) je ekološki prihvatljiva metoda ekstrakcije koja dobiva sve veću pozornost zbog smanjenja ili eliminacije organskih otapala prilikom ekstrakcije. Kao otapalo se koristi subkritična voda, a to je voda koja je u temperaturnom rasponu od 100 do $374\text{ }^\circ C$ i pod visokim tlakom da bi se zadržala u tekućem stanju. Pod subkritičnim uvjetima dolazi do smanjenja dielektrične konstante vode uslijed raspada intramolekulskih vodikovih veza. Dielektrična konstanta vode smanjuje se s 80 (kod sobne temperature) na 27 (na $250\text{ }^\circ C$), što je gotovo jednako dielektričnoj konstanti etanola pri sobnoj temperaturi. Glavne prednosti SCWE u odnosu na konvencionalne metode su jednostavnost metode, visoka kvaliteta ekstrakta, kratko vrijeme ekstrakcije i ekološka prihvatljivost zbog korištenja vode kao otapala čime se reducira upotreba potencijalno toksičnih organskih otapala (Shahid i sur., 2016).

Ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem (*Pulsed electric field extraction*, PEFE) je brza, netopljinska i vrlo učinkovita metoda ekstrakcije bioaktivnih komponenti (Shahid i sur., 2016). Tretman PEF-om znači primjenu električnog polja napona između 0,1 i 20 kV/cm u kratkim pulsevima (μs do ms) na materijal smješten u komori između dviju elektroda. PEF se postiže sustavom modulacije pulsa pomoću kojeg se istosmjerna električna energija niske razine napona, pretvara u PEF visokog intenziteta (Poojaryi sur., 2016). Princip na kojem se zasniva PEFE je elektroporacija tj. destabilizacija stanične membrana pod utjecajem pulseva vrlo visokog napona što dovodi do polupropusnosti membrana i time se olakšava prolaz otapala i ekstrakcija (Jaeschke i sur., 2019; Shahid i sur., 2016). Tijekom procesa ekstrakcije dolazi do minimalnog porasta temperature što upućuje na to da je PEFE netopljinski proces te kao novija metoda ekstrakcije smatra se ekonomičnom i ekološki prihvatljivom alternativom konvencionalnim metodama (Shahid i sur., 2016).

Ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem (*High voltage electrical discharge*, HVED) je netopljinska tehnika ekstrakcije pri sobnoj temperaturi primjenom električne struje vrlo visokog napona (20 – 80 kV/cm) prilikom čega dolazi do električnog pražnjenja i formira se tzv. plazma kanal između dviju elektroda (Xi i sur., 2017) zbog čega je za HVED općeprihvaćen naziv i hladna plazma. Kod HVED ekstrakcije, slično kao i kod PEFE, uslijed električnog izboja (plazme) dolazi do elektroporacije tj. destabilizacije stanične strukture čime se olakšava ekstrakcija. HVED predstavlja obećavajuću tehniku „zelene“ ekstrakcije biološki aktivnih spojeva sa „zelenim“ otapalima te kao takva ima potencijal za održivu proizvodnju (Žuntar i sur., 2019) jer skraćuje vrijeme i povećava se prinos ekstrakcije te je smanjena potrošnja energije (Xi i sur., 2017).

3.7.3. Biljni materijal za ekstrakciju i liofilizaciju

3.7.3.1. Kadulja

Kadulja (*Salvia officinalis*) (Slika 10) pripada porodici *Lamiaceae* (usnače) koja sadrži gotovo 900 vrsta. Ona samoniklo raste u suhim, kamenitim tlima u priobalju ili se uzgaja diljem svijeta, a potječe sa srednjeg istoka i mediteranskog područja (Ghorbani i Esmaeilzadeh, 2017; Toplak Galle, 2011).



Slika 10. *Salvia officinalis* (Anonymus 3)

Kadulja raste do visine od 20 do 60 cm, grane u donjem dijelu su odrvenjele, a zeljasti, jednogodišnji ogranci stabljike su četverbridni i dlakavi. Listovi su eliptičnog ili jajastog oblika te se nalaze na kratkoj peteljci ili su sjedeći, nasuprotni, s gornje strane sivozelene boje, a s donje prekriveni gustim vunenastim dlakama. Biljka cvate u svibnju i lipnju, a ljekoviti dio biljke je list (*Salviae folium*) koji se ubire prije cvatnje, a njegovim sušenjem dobiva se droga karakterističnog mirisa i aromatičnog, gorkog okusa. Iz mladih zelenih grančica i listova (ubranih neposredno prije cvatnje) vodenom destilacijom se dobiva eterično ulje (Toplak Galle, 2011).

Ljekovitost kadulje cijenila se još u antičkom dobu kada ju je Plinije nazvao "salvia" (ljekovita) što potječe od latinske riječi *salvus* (zdrav). U srednjem vijeku kadulja se smatrala sredstvom za produljenje života i protjerivanje zloduha (Toplak Galle, 2011). Ovi primjeri potvrđuju dugu povijest primjene kadulje u tradicionalnoj medicini, gdje se koristila primjerice kod dispepsije, pretjeranog znojenja, kognitivnih poremećaja, upala grla i kože, napadaja, čireva, gihta, reume, vrtoglavica, paralize, hiperglikemije. Osim primjene u medicini, poznata je i ona u kulinarstvu gdje se koristila zbog okusa i svojstava začina koje posjeduje. U novije vrijeme provedena su brojna istraživanja kako bi se dokazalo pozitivno djelovanje kadulje te su otkrivena antikancerogena, antiinflamatorna (protuupalna), antioksidacijska, antimikrobna, antimutagena, antidementivna svojstva, djelovanje na nociceptore, hipoglikemiju i hipolipidemiju (Ghorbani i Esmailizadeh, 2017).

Cvijeće, lišće i stabljika kadulje sadrže brojne skupine kemijskih sastojaka: alkaloida, ugljikohidrata, masne kiseline, glikozide, fenolne spojeve (kumarine, flavonoide, tanine), poliacetilene, steroide, terpene i terpenoide te voskove. Najviše fitokemikalija kadulje je izdvojeno iz eteričnog ulja, alkoholnih ekstrakata, vodenih ekstrakata, frakcije butanola i infuzije (Ghorbani i Esmailizadeh, 2017). Eterična ulja sadrže više od 120 tvari, a glavne su tujon (α - i β -tujon), cineol, kamfor, borneol, bornil acetat, pinene i dr., a droga sadrži gorku tvar karnozol i srodnu negorku tvar karnozolnu kiselinu, triterpenske kiseline (ursolnu i

oleanolnu), triterpen gemanikol te flavone i njihove glikozide (salvigenin) (Ghorbani i Esmaeilizadeh, 2017; Toplak Galle, 2011). Vodeni i alkoholni ekstrakti bogati su flavonoidima: ružmarinskom kiselinom i luteolin-7-glukozidom, a u biljnoj infuziji identificirani velik broj flavonoida: klorogenska kiselina, elaginska kiselina, epikatehin, epigalokatehin galat, kvercetin, ružmarinska kiselina, rutin i luteolin-7-glukozid te hlapive komponente kao što su borneol, cineol, kamfor i tujon (Ghorbani i Esmaeilizadeh, 2017).

3.7.3.2. Origano

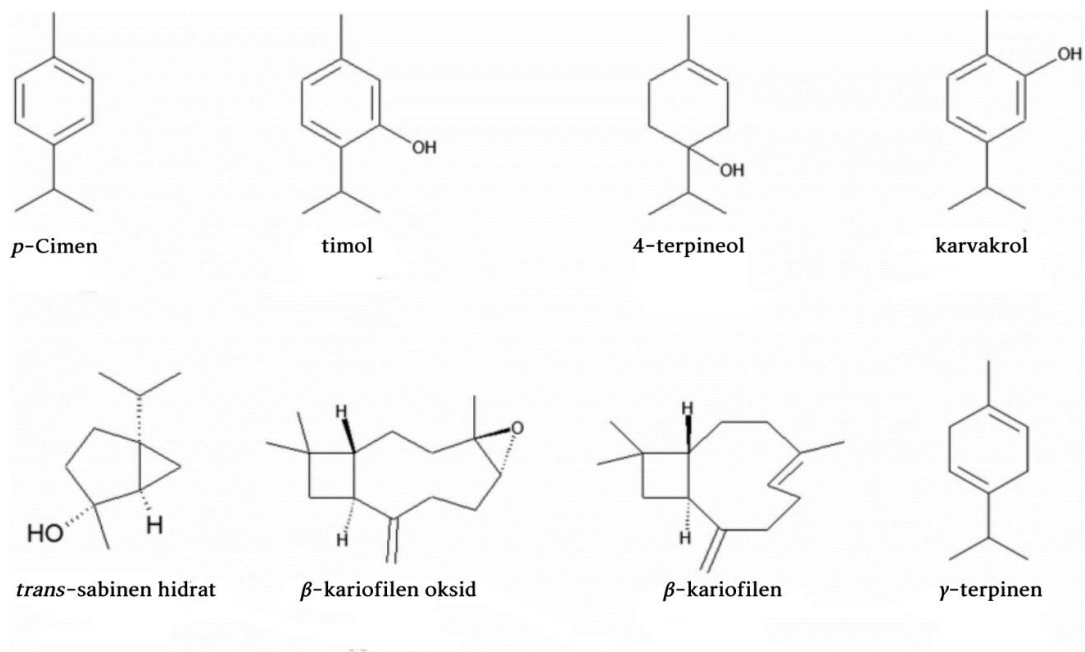
Origano (*Origanum vulgare* L.) (Slika 11), poznatiji još i pod nazivima mravinac i divlji mažuran je samonikla biljka iz porodice usnača (*Lamiaceae*) tipična za suha i vapnenasta područjima mediteranskog dijela Europe i Euroazije. Višegodišnja je aromatična biljka visine 30-50 cm s bijelim do ljubičastim cvjetovima te nasuprotnim i nazubljenim listovima prekrivenim dlačicama. Origano je u svijetu poznat kao jedna od najčešće upotrebljivanih začinskih biljaka (Pezzani i sur., 2017).



Slika 11. *Origanum vulgare* L (Anonymus 4)

Nadzemni dijelovi biljke sadrže mnogobrojne bioaktivne komponente, uključujući fenolne glikozide, flavonoide, tanine, sterole te terpenoide. Sadržaj bioaktivnih komponenti razlikuje se ovisno o kemotipu iste vrste, geografskom području rasta te vremenu berbe. Dominantni spojevi eteričnog ulja origana su monoterpeni ugljikovodici (p-cimen i γ -terpinen), oksigenirani monoterpeni (timol, 4-terpineol, karvakrol i *trans*-sabinen hidrat), seskviterpeni ugljikovodici (β -kariofilen) i oksigenirani seskviterpeni (β -kariofilen oksid) prikazani na Slici 12 (Giacometti i sur., 2018; Pezzani i sur., 2017). U narodnoj medicini, origano je često korišten lijek za poticanje probave, poboljšanja rada jetre i žuči te kod grčeva, a spominje se djelovanje i kod bronhitisa, grčevitog kašlja, astme i prehlade (Pezzani i sur., 2017). Brojna *in vitro* i *in vivo* preklinička istraživanja pokazala su potencijal origana kao djelotvornog sredstva kod kroničnih degenerativnih i zaraznih bolesti zbog antikancerogenog, protuupalnog, antioksidacijskog i antimikrobnog djelovanja biološki aktivnih komponenti. Prema Pezzani i sur. (2017) veću djelotvornost pokazuju složeniji sustavi poput ekstrakata i

eteričnih ulja u odnosu na čiste spojeve, a tome se pripisuje sinergističko i/ili zbrajajuće djelovanje različitih komponenti sustava.



Slika 12. Glavne sastavnice eteričnog ulja origana (prema Pezzani i sur., 2017)

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Materijali

4.1.1. Pribor i aparatura

- 3D-printer - Inventor, Flashforge, Kina
- Uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari - RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument, Zhengzhou, Kina
- Analitička vaga - Mettler-Toledo, Columbus, SAD
- Tehnička vaga Highland HCB1002 - Adam Equipment, Oxford, Velika Britanija
- Metalna špatula
- Staklene epruvete/kivete
- Mikropipete (100 μ L, 300 μ L, 500 μ L, 1 mL, 10 mL)
- UV/VIS spektrofotometar - Lambda 25, PerkinElmer Waltham, SAD
- Kvarcne/staklene kivete
- Plastična ladica za vaganje
- Stakleni štapić
- Staklena čaša (50 ml, 100 ml, 250 ml)
- Menzura
- Odmjerne tikvice (10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml)
- Filter papir
- Stakleni lijevak
- Štapni mikser ErgoMixx MSM66110 - Bosch, Stuttgart, Njemačka
- Focus 3D Food Printer - byFlow, Edinhoven, Nizozemska
- Magnetska mješalica s grijačem - Dlab MS-H-S, Peking, Kina
- HVED generator - IMP-SSPG-1200, Zagreb, Hrvatska
- Kolorimetar - CM 3500d, Konica Minolta, Tokyo, Japan
- Teksturometar - TA.HDPlus, Stable Micro Systems, Godalming, Velika Britanija
- Veličina čestica - Mastersizer 2000, Malvern, Njemačka
- Liofilizator - FDL-10N-50-8M Mrclab, Holon, Izrael
- Centrifuga - Rotina 35, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Njemačka

4.1.2. Kemikalije

- Destilirana voda
- Biljni materijal
 - kadulja - Franck, Zagreb, Hrvatska
 - origano - Suban, Samobor, Hrvatska
- PVA-filament, Formfutura, Nijmegen, Nizozemska
- Škrob
 - nativni krumpirov škrob - Fisher Chemical, Hanover, Njemačka
 - nativni kukuruzni škrob - Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD
 - modificirani kukuruzni škrob - Fisher Chemical, Hanover, Njemačka
- Agar - Biolife, Milano, Italija
- Limunska kiselina–Šafram, Turanovac, Hrvatska
- Šećer (saharoza) - Premijer, Osijek, Hrvatska
- Klorovodična kiselina, HCl, 37 % - Carlo Erba Reagents, Val de Reuil, Francuska
- Octena kiselina, 99-100 % - J. T. Baker, Gliwice, Poljska
- Natrijev acetat trihidrat - Gram Mol, Zagreb, Hrvatska
- Željezo (III) klorid - Gram Mol, Zagreb, Hrvatska
- Etanol 96 % - Gram Mol, Zagreb, Hrvatska
- 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) - Acros Organics, Geel, Belgija
- Željezo (II) sulfat septahidrat - Honeywell Fluka, Seelze, Njemačka
- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens) - Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrijevkarbonat - Gram Mol, Zagreb, Hrvatska
- Galna kiselina, 98 % - Acros Organics, Geel, Belgija

4.2. METODE

4.2.1. Određivanje veličine čestica

Veličina čestica sušene kadulje i origana te liofilizirane kadulja i origana određena je principom laserske difrakcije uređajem Mastersizer 2000 (Malvern, Njemačka) (Slika 13).



Slika 13. Uređaj za određivanje veličine čestica (Malvern, Mastersizer 2000)

4.2.2. Liofilizacija

Liofilizacija je jedinstven postupak sušenja namirnice u smrznutom stanju. Sastoji se od nekoliko koraka koji obuhvaćaju operacije zamrzavanja i dehidracije sublimacijom i desorpcijom. Osnovni inženjerski aspekti u procesu zamrzavanja vezani su uz prijenos topline i kristalizaciju, a u procesu dehidracije tj. sublimacije uz prijenos topline i prijenos mase. Princip liofilizacije zasniva se na uklanjanju vode iz prethodno zamrznutog proizvoda procesom sublimacije tj. neposrednim prijelazom vode iz čvrstog u plinovito stanje, a to se ostvaruje podvrgavanjem zamrznutog proizvoda djelovanju topline pod odgovarajućim podtlakom (vakuumom). Tijekom procesa, voda se uklanja u dva stadija:

1. U stadiju sublimacije ili tzv. primarnoj dehidraciji uklanja se voda koja se nalazi u obliku leda, to je prije svega slobodna voda. Tijekom tog stadija, led prelazi u vodenu paru te se voda ni u jednom trenu ne pojavljuje u tekućoj fazi. Tijekom tog stadija, važno je održavati proizvod u zamrznutom stanju što se postiže konstantnim održavanjem niske temperature te je važno iz komore neprestano odvoditi sublimiranu vodu. Na taj način, konačan proizvod poprima karakterističnu poroznu strukturu.
2. U stadiju izotermne desorpcije ili tzv. sekundarnoj dehidraciji uklanja se kapilarna voda odnosno ona voda koja nije bila izdvojena u obliku leda. Voda se uklanja zagrijavanjem proizvoda na temperaturi višoj od ambijentalne, pod vakuumom i obično traje 1/3 do 1/2 vremena potrebnog za primarnu dehidraciju (Nireesha i sur., 2013.).

Postupkom liofilizacije dobivaju se proizvodi karakteristične poroznosti uz minimalne gubitke boje, okusa, arome i bioaktivnih spojeva. Promjene u obliku i veličini izvornog proizvoda su minimalne, a sposobnost rehidracije liofiliziranih proizvoda bolja je od onih dobivenih konvencionalnim postupcima sušenja (Hnin i sur., 2019). Međutim, uz brojne prednosti, postupak liofilizacije ima i značajne nedostatke. Liofilizacija se smatra jednom od najskupljih metoda dehidracije zbog velike potrošnje energije, vremena te visokih troškova rada i održavanja. Analize energetske potrebe pokazale su da je energija potrebna za uklanjanje 1 kg vode iz proizvoda gotovo dvostruko veća kod procesa liofilizacije u odnosu na konvencionalne metode dehidracije. Usporedno sa sušenjem na zraku, trošak sušenja liofilizacijom je 4-8 puta veći. Glavnina utrošene energije otpada na proces sublimacije, odnosno za postizanje niskih temperatura i tlakova, kao i u procesu zagrijavanja (Cieurzyńska i Lenart, 2011).

4.2.3. Ispitivanje brzine oslobađanja (*in vitro* ispitivanje)

Farmaceutski gledano, oslobađanje (*Dissolution*) se definira kao brzina prijenosa mase s čvrste površine u medij za oslobađanje/otapanje pod standardiziranim uvjetima. Osnovni korak je reakcija krute tvari s tekućim medijem, a ta reakcija se odvija na granici čvrsto-tekuće te je kinetika oslobađanja ovisna o 3 čimbenika: protoku medija, stopi reakcije na granici čvrsto-tekuće i molekularnoj difuziji krute tvari u medij (Singhvi i Singh, 2011).

Ispitivanje otpuštanja bioaktivnih komponenti liofilizirane kadulje i origana iz 3D printanih PVA kapsula ispitano je metodom *in vitro*, a korišten uređaj prikazan je na Slici 14 (RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument, Zhengzhou, Kina). Pri ispitivanju je korištena naprava s lopaticama. Kao medij je korištena 0,1 M HCl, pH 1,2. Temperatura medija podešena je u svim ispitivanjima na $37 \pm 0,5$ °C. Za miješanje su korištene lopatice promjera 74 mm, pri 75 o/min. Uzorkovanje je provedeno u vremenima 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 i 120 minuta. Pri izvedbi eksperimenata korištene su tzv. japanske košarice za potapanje kapsula kojima je osigurana njihova uronjenost u medij tijekom cijelog perioda mjerenja. Za ispitivanje postavljene su 2 paralele za svaki uzorak biljke.



Slika 14. Uređaj za ispitivanje otpuštanja djelatnih tvari (RC-6D, Zhengzhou Nanbei Instrument)

4.2.4. 3D ispis kapsula

Za 3D ispis PVA kapsula korišten je 3D-printer Inventor tvrtke FlashForge (Slika 15). Printer koristi FDM (*Fused deposition modeling*) tehniku tiskanja i ima dva ekstrudera te izrazito visoku razlučivost od 50 mikrometara. Modeli kapsula su dizajnirani pomoću AutoCAD v.2020 softvera te su prevedeni u .stl format za 3D ispis. Kapsule se sastoje od 2 dijela, unutrašnjeg za punjenje biljnim materijalom i poklopca. Za 3D ispis kapsula korišten je PVA filament. Uvjeti 3D ispisa su prikazani u Tablici 4.

Tablica 4. Uvjeti 3D ispisa PVA kapsula

	3D kapsula unutrašnji dio	3D kapsula poklopac
Rezolucija	Visoka	Visoka
Visina sloja [mm]	0,12	0,05
Visina prvog sloja [mm]	0,20	0,10
Gustoća ispune [%]	20	100
Oblik ispune	Heksagon	Heksagon
Brzina tiskanja [mm/s]	30	10
Brzina pomicanja mlaznice [mm/s]	50	50
Temperatura desnog ekstrudera [°C]	185	185
Temperatura lijevog ekstrudera [°C]	185	185
Temperatura platforme [°C]	50	50



Slika 15. 3D printer Inventor (FlashForge)

4.2.5. Ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem (HVED)

Kako bi se poboljšala ekstrakcija bioaktivnih komponenti korištena je netopljinska tehnika ekstrakcije visokonaponskim pražnjenjem (*High voltage electrical discharge*, HVED). U generatoru IMP-SSPG-1200 (Impel grupa, Zagreb, Hrvatska) (Slika 16) provedena je ekstrakcija uzorka generiranjem atmosfere plazme do koje dolazi uslijed ionizacije plina (dušik). Parametri plazma generatora prikazani su u tablici 5.



Slika 16. Plazma generator (MP-SSPG-1200)

Prije ekstrakcije potrebno je pripremiti uzorak (biljni materijal: origano, kadulja). Izvaže se 1,0 g uzorka i pomiješa se s 50 mL otapala, odnosno vode. Pripremljeni uzorak podvrgava se ekstrakciji visokonaponskim pražnjenjem (Slika 17). U uzorku pri odgovarajućim uvjetima napona i frekvencije, kroz određeno vrijeme dolazi do generiranja hladne atmosfere plazme što dovodi do destabilizacije stanične strukture odnosno olakšane ekstrakcije. Dobiveni ekstrakt se profiltrira te se filtrat koristi za proizvodnju jestivog hidrokoloidnog gela.

Tablica 5. Parametri plazma generatora IMP-SSPG-1200

Ambijentalna temperatura	20 °C
Vrijeme tretiranja	9 min
Plin	dušik
Razmak između elektroda	1,5 cm
Napon istosmjerne struje	25 kV
Frekvencija	100 Hz
Jakost struje	20 mA
Puls	0,4 μs
Snaga	± 92 W

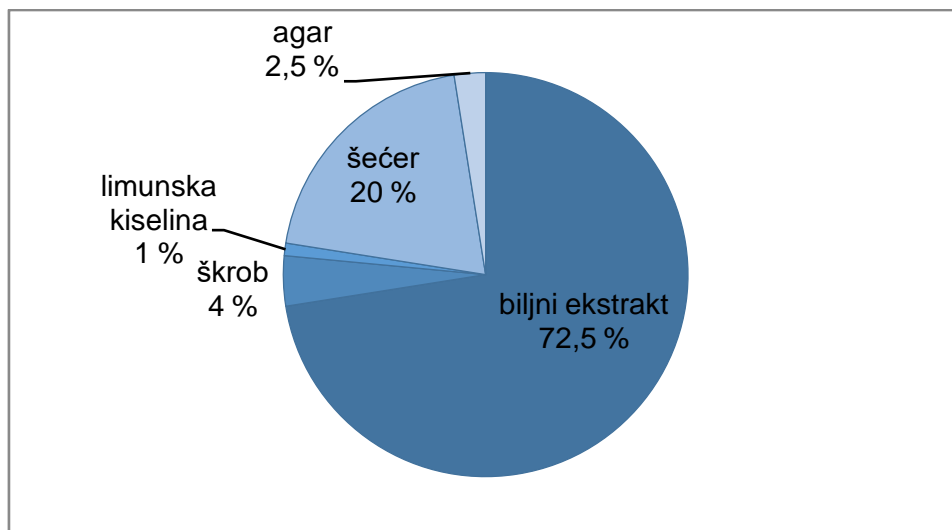


Slika 17. Visokonaponsko električno pražnjenje u otopini

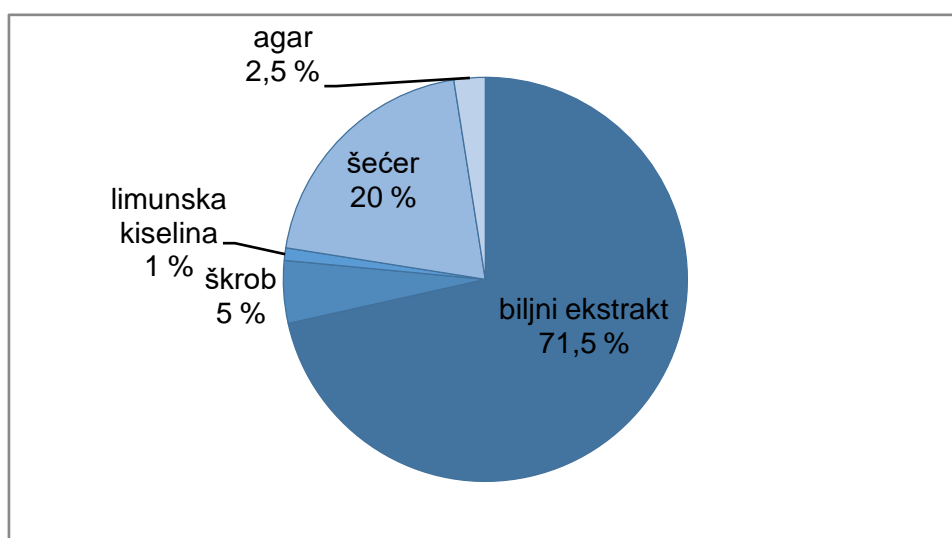
4.2.6. Razvoj recepture jestivih hidrokolidnih gelova

U preliminarnim istraživanjima isprobane su različite kombinacije hidrokoloida u različitim udjelima te je za daljnje istraživanje izabrana kombinacija agara udjela 2,5 % i modificiranog kukuruznog/nativnog kukuruznog/nativnog krumpirovog škroba u udjelima od 4 %, 5 % i 6 %. Koncentracije škrobova od 1-3 % te iznad 6 % nisu davale printabilni prehrambeni materijal.

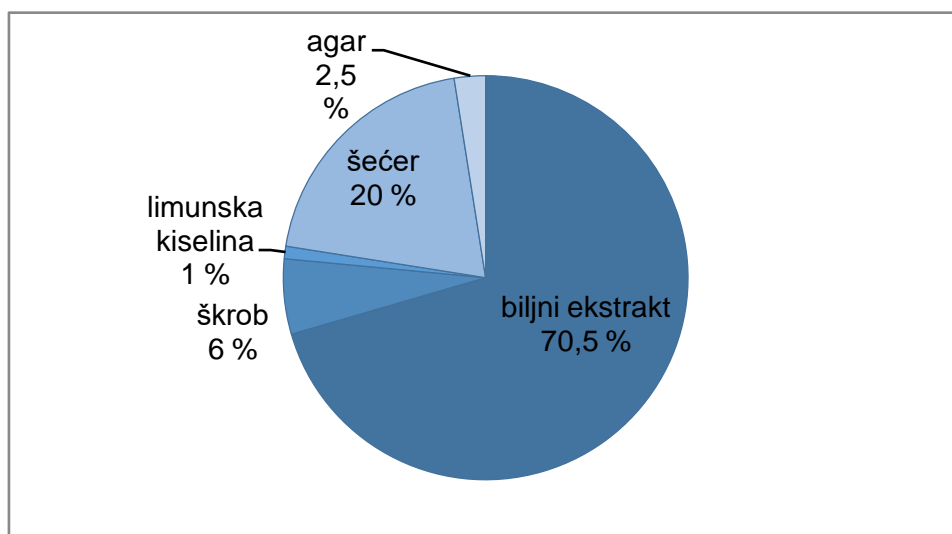
U recepturi je korišten konstantan udio agara od 2,5 %, šećera od 20 % te limunske kiseline od 1 %. Porastom udjela škroba, smanjuje se udio biljnog ekstrakta što je prikazano na Slikama 18 a-c.



Slika 18a. Udjeli pojedinih komponenti u jestivim hidrokolooidnim gelovima s 4 % škroba



Slika 18b. Udjeli pojedinih komponenti u jestivim hidrokolooidnim gelovima s 5 % škroba



Slika 18c. Udjeli pojedinih komponenti u jestivim hidrokolooidnim gelovima s 6 % škroba

Nakon odvage svih sastojaka, ekstrakt se zagrijava do temperature od 85 °C čime se osigurava potpuno otapanje agara i želatinizacija svih vrsta škrobova. Nakon zagrijavanja, smjesa se ohladi do temperature od 60 °C i prebacuje u uložak ekstrudera te se vrši 3D ispis.

4.2.7. 3D ispis jestivih hidrokolidnih gelova

Za ispis jestivih hidrokolidnih gelova korišten je Focus 3D Food Printer (byFlow, Eindhoven, Nizozemska) (Slika 19). 3D printer je namijenjen printanju hrane na principu ekstruzije, a sadrži jedan ekstruder na koji stavlja mlaznica. Uz printer dolaze mlaznice različitih promjera otvora:

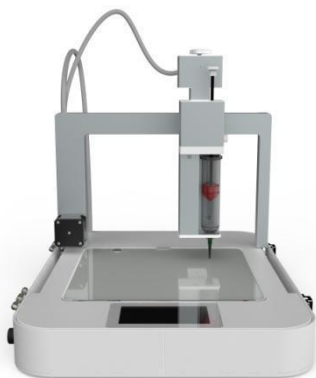
- male: zelene 0,8 mm
- srednje: sive 1,2 mm
- velike: maslinasto zelene 1,6 mm.

Modeli jestivih hidrokolidnih gelova dizajnirani su u softveru AutoCAD v.2020 te preko softvera Slic3r prebačeni u 3D modele u .gcode obliku koje prepoznaje 3D printer. U Slic3r-u namještena je visina, širina, duljina, broj slojeva te odabrana veličina nosnice. Za 3D ispis jestivih hidrokolidnih gelova korištena je prethodno pripremljena smjesa koja je sadržavala: ekstrakt biljke, škrob (nativni kukuruzni/ nativni krumpirov/ modificirani), agar, šećer i limunsku kiselinu.

Uvjeti 3D ispisa prikazani su u Tablici 6.

Tablica 6. Uvjeti 3D ispisa jestivih hidrokolidnih gelova

Mlaznica	0,8 mm (zelena)
Brzina ispisa (<i>speed</i>)	100
Brzina ekstruzije (<i>extrude rate</i>)	100
Temperatura glave ekstrudera [°C]	/
Temperatura platforme [°C]	25
Temperatura hidrokolidnog gela za ispis [°C]	60



Slika 19. Focus 3D Food Printer (ByFlow)

4.2.8. Tekstura

Instrumentalna analiza provedena je pomoću TA.HDPlus analizatora teksture (Stable Micro Systems, Godalming, Velika Britanija) (Slika 20). Pomoću cilindrične sonde promjera 5 mm i ćelije opterećenja 30 kg provedeno je ispitivanje pritiska uzorka brzinom 0,5 mm/s, na udaljenosti od 2 mm. Ispitivanje je provedeno na sobnoj temperaturi te je svaka analiza izvršena u 2 paralele.



Slika 20. TA.HDPlus analizator teksture (Stable Micro Systems)

4.2.9. Boja

Parametri boje za sve uzorke 3D printanih hidrokoloidnih gelova s ekstraktima izmjereni su CM 3500d kolorimetrom (Konica Minolta, Tokyo, Japan) (Slika 21) pri čemu su se mjerile L^* , a^* i b^* vrijednosti. Sva mjerenja su provedena u SCI (*Specular Component Included*) modu. Kao standard u kolorimetrijskoj analizi su korišteni 3D printani hidrokoloidni gelovi koji su umjesto ekstrakta, u istoj količini sadržavali destiliranu vodu. Na temelju izmjerenih kolorimetrijskih vrijednosti (L^* , a^* , b^*) 3D printanih hidrokoloidnih gelova u odnosu na standard, izračunate su sljedeće vrijednosti prema pripadajućim formulama[1-5]:

$$\text{Nijansa (H): } H = \arctan\left(\frac{b}{a}\right) \quad [1]$$

$$\text{Kromatičnost (ton boje) (C): } C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad [2]$$

$$\text{Razlika kromatičnosti uzorka u odnosu na standard: } \Delta C = C_{\text{uzorak}} - C_{\text{standard}} \quad [3]$$

$$\text{Ukupna razlika obojenosti (\Delta E): } \Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad [4]$$

$$\text{Ukupna razlika zasićenje (\Delta H): } \Delta H = \sqrt{\Delta E^2 - \Delta L^2 - \Delta C^2} \quad [5]$$



Slika 21. Kolorimetar (Konica Minolta, CM 3500d)

4.2.10. Senzorska analiza jestivih hidrokolidnih gelova

U ovom radu je korišten deskriptivni test za senzorsku analizu 3D printanih hidrokolidnih gelova. Deskriptivne senzorske analize su postupci opisivanja svojstava proizvoda koji pri procjeni proizvoda u potpunosti uzimaju u obzir svaki zapaženi osjeti vizualni, auditivni, olfaktorni te kinestetički. Posebna prednost ove metode je mogućnost grafičkog prikaza dobivenih rezultata pomoću *spider charta*, tzv. paukove mreže (Vahčić i sur, 2000). Senzorska analiza 3D printanih hidrokolidnih gelova provedena je uz pomoć panela od 23 osobe. Test sadrži 6 glavnih svojstava za: izgled, boju, aromu, slatkoću/kiselost, teksturu i otapanje u ustima. Svakom od svojstava pripada odgovarajući maksimalan broj bodova koji iznosi 4, odnosno 6. Za svako svojstvo prikazan je raspon i objašnjenja ocjena te je moguće hidrokolidni gel ocijeniti ocjenama 0-4, odnosno, 0-6, kako je prikazano u Tablici 7. U Tablici 8. prikazan je listić u koji panelisti upisuju ocjene za pojedini uzorak te odgovore na postavljena pitanja i eventualne izdvojene komentare. U Tablici 9. objašnjene su oznake uzoraka.

Tablica 7. Tablica svojstava i ocjena sa objašnjenjima za senzorsku analizu

SVOJSTVO	MAKSIMALAN BROJ BODOVA	OCJENA	
IZGLED	4	4	odličan, lijepo isprintani čvrsti hidrokoloidni gel, pravilne linije
		3	dobar, pravilan i čvrsti hidrokoloidni gel
		2	loš, nepravilno
		0-1	neprihvatljiv, nepravilan hidrokoloidni gel, previše mjehurića ili grudasto
BOJA	6	5-6	odlična, prirodna i karakteristična za proizvod
		3-4	dobra, pristaje proizvodu, ali ne toliko privlačna
		2	presvijetla, pretamna
		0-1	neprihvatljiva, netipična
AROMA	6	5-6	odlična, karakteristična za proizvod
		3-4	dobra, slabije izražena
		2	loša, prisutnost aroma koje ne pripadaju proizvodu
		0-1	neprihvatljiva, neugodna aroma
SLATKOĆA/KISELOST	6	5-6	odlična, optimalan omjer kiseline i slatkoće
		3-4	dobar omjer kiseline i slatkoće
		2	loša, kiselina ili slatkoća je više izražena
		1-0	neprihvatljiva, previše izražena kiselost ili slatkoća
TEKSTURA	4	4	odlična, čvrsti i elastični hidrokoloidni gel, karakteristično za proizvod
		3	dobra, elastični hidrokoloidni gel, nedovoljno čvrsto
		2	loša, premekano ili previše zrnato
		0-1	neprihvatljiva, zrnata tekstura
OTAPANJE U USTIMA	4	4	odlično, lako se otapa u ustima
		3	dobro se otapa u ustima
		2	loše se otapa u ustima
		0-1	neprihvatljivo, loše se otapa, treba puno žvakati
UKUPNO	30		

Tablica 8. Listić za ocjenjivanje

Uzorak	IZGLED	BOJA	AROMA	SLATKOĆA/ KISELOST	TEKSTURA	OTAPANJE U USTIMA
A135						
A356						
A687						
B149						
B258						
B713						
Koji od ponuđenih hidrokoloidnih gelova vam je najbolji						
Što mislite, koja biljka je korištena za izradu hidrokoloidnih gelova?				A:	B:	
Izdvojeni komentar:						

Tablica 9. Oznaka i objašnjenje uzoraka za senzorsku analizu

Oznaka uzorka	Objašnjenje
A135	Kadulja 4 % nativni kukuruzni škrob
A356	Kadulja 4 % nativni krumpirov škrob
A687	Kadulja 4 % modificirani kukuruzni škrob (E1422)
B149	Origano 4 % nativni krumpirov škrob
B258	Origano 4 % modificirani kukuruzni škrob (E1422)
B713	Origano 4 % nativni kukuruzni škrob

Tablica 10. Oznake uzoraka 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima

Oznaka	Objašnjenje
K	Kadulja
O	Origano
4%, 5%, 6%	Koncentracija škroba
Kr	Nativni krumpirov škrob
Kuk	Nativni kukuruzni škrob
Mod	Modificirani kukuruzni škrob

4.2.11. Priprema uzorka za određivanje udjela ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti

- **Kapsule:** tijekom ispitivanja brzine otpuštanja, u svakom vremenu uzorkovanja, izuzeto je 5 ml uzorka koji je korišten za daljnje analize.
- **Jestivi hidrokoloidni gel:** 5 g isprintanog uzorka je homogenizirano štapnim mikserom s 10 ml ekstrakcijskog otapala (voda). Nakon homogenizacije uzorak je profiltriran te je filtrat podvrgnut centrifugiranju 5 minuta na 9000rpm. Dobiveni supernatant predstavlja „ekstrakt“ koji je korišten u daljnjim analizama.

Prema potrebi, uzorci za analizu su adekvatno razrijeđeni te je faktor razrjeđenja uzet u obzir prilikom izračuna.

4.2.12. Određivanje ukupnih polifenola

Fenolni spojevi se ubrajaju u specifične pigmente i sekundarni su biljni metaboliti prisutni u velikom broju biljaka u značajnim količinama. Osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina, a prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide i neflavonoide.

Metoda određivanja ukupnih polifenola temelji se na kolorimetrijskoj reakciji F.C. reagensa s nekim reducirajućim agensom (fenolni spojevi). F.C. reagens predstavlja smjesa fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline. Pri oksidaciji fenolnih tvari u blago alkalnim uvjetima ove kiseline se reduciraju u volframov oksid i molibdenov oksid koji daju karakteristično plavo obojenje. Što je prisutan veći broj hidroksilnih skupina ili oksidirajućih grupa, intenzitet plavog obojenja će biti izraženiji. Nastali intenzitet obojenja mjeri se spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 765 nm (Shortle i sur., 2014).

Postupak određivanja

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 100 μ L ekstrakta, 200 μ L F.C. reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 min doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve

skupa se promiješa, a potom se uzorci termostatiraju 60 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini od 765 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju.

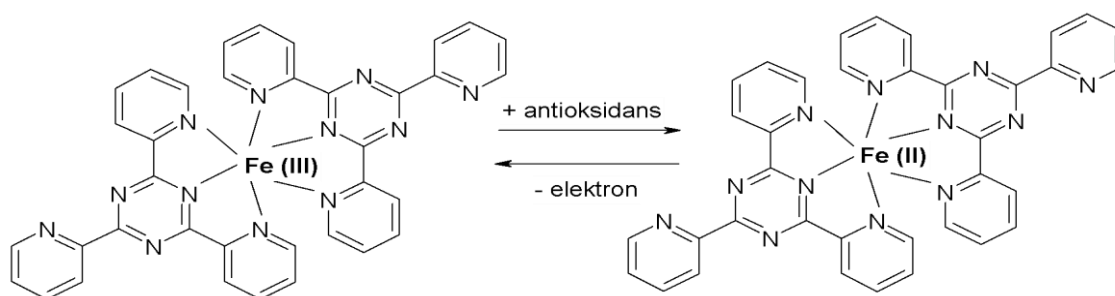
Izrada baždarnog dijagrama

Za pripremu baždarnog dijagrama odvaži se 0,5 g standarda galne kiseline. Galna kiselina se otopi u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i dopuni destiliranom vodom do oznake. Od te otopine galne kiseline rade se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL tako da se otpipetira redom 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 100 μ L otopine standarda u staklene epruvete. Potom se dodaje redom 200 μ L F.C. reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 min doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa se promiješa, a potom se uzorci termostatiraju 60 minuta na sobnoj temperaturi. Za slijepu probu uzima se 100 μ L destilirane vode. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrti se baždarni dijagram pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 765 nm. Koncentracija ukupnih fenola izračuna se prema dobivenoj jednadžbi pravca, gdje y predstavlja apsorbanciju pri 765 nm, a x koncentraciju galne kiseline u mg/L. Rezultati su izraženi i preračunati kao vrijednosti miligrama galne kiseline po gramu uzorka ($\text{mg GAE/g}_{\text{uzorka}}$) (Shortle i sur., 2014).

4.2.13. Određivanje antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom

Princip FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) metode bazira se na reakciji redukcije žuto obojenog kompleksa TPTZ pri čemu nastaje plavo obojeni produkt (Slika 22). Metoda se temelji na sposobnosti uzorka (ekstrakta) da reducira Fe^{3+} ione u Fe^{2+} ione u otopini TPTZ-a pri nižem pH kako bi se zadržala dobra topljivost željeza. Redukcija se prati mjerenjem promjene apsorbancija pri 595 nm.



Slika 22. Reakcija redukcije TPTZ (Benzie i Strain, 1996)

Postupak određivanja

U staklene epruvete redom se otpipetira 240 μL destilirane vode, 80 μL uzorka, 2080 μL FRAP reagensa, dobro se promiješa te 5 minuta termostatira na temperaturi 37 °C. Zatim se mjeri apsorbancija pri 595 nm. Slijepa proba sadržava sve osim uzorka, umjesto kojeg se dodaje otapalo u kojem je uzorak pripremljen.

Izrada baždarnog dijagrama

Za pripremu baždarnog dijagrama pripremi se 500 mL 1 mM otopine željezo (II)-sulfata septahidrata od koje se pripreme razrjeđenja u koncentracijama: 0, 25, 100, 250, 500 i 750 μM na način da se u odmjerne tikvice volumena 10 mL redom otpipetira: 0; 0,25; 1; 2,5; 5 i 7,5 mL alikvot otopine željezo (II)-sulfata septahidrata te do oznake nadopuni destiliranom vodom.

U odmjerne tikvice od 10 mL redom se otpipetira 240 μL destilirane vode, 80 μL otopine standarda i 2080 μL FRAP reagensa, kratko promiješa te 5 minuta termostatira na temperaturi 37 °C. Zatim se mjeri apsorbancija pri 593 nm. Slijepa proba sadržava sve osim uzorka, umjesto kojeg se dodaje destilirana voda (Benzie i Strain, 1996).

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije nacrtava se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (μM) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati. Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračunava se antioksidacijski kapacitet uzoraka određen FRAP metodom, gdje je y apsorbancija pri 593 nm, a x ekvivalent Fe^{2+} (μM). Rezultati su izraženi i preračunati kao vrijednosti μmol ekvivalenta željeza Fe^{2+} po gramu uzorka ($\mu\text{mol FE/g}_{\text{uzorka}}$).

4.2.14. Utjecaj procesa na okoliš i ekonomičnost proizvoda

Potrošnja energije bazirana je na tehničkim specifikacijama uređaja i trajanju pojedinog procesa dok je ugljični otisak određen pomoću alata CCaLC2 (The University of Manchester, Manchester, Velika Britanija). CCaLC2 je pojednostavljeni LCA alat koji omogućava brzu i laku procjenu utjecaja procesa proizvodnje na životnu sredinu (Anđelić i Rajaković-Ognjanović, 2019). Služi za prepoznavanje tzv. „ugljičnih žarišta“ („*carbon hotspots*“) kao i za ostala sveobuhvatnija mjerenja. Predstavlja jedan od potpornih alata za izračunavanje i smanjenje ugljičnog otiska u različitim industrijskim sektorima duž kompletnih lanaca opskrbe (Anandhan i Prabakaran, 2018). Izračun pojedinih podataka, osim kroz cijeli lanac, moguće je provesti i kroz svaki proces pojedinačno. Sam alat uključuje 2 baze podataka CCaLC2 bazu podataka i *Ecoinvent* bazu podataka. Svi podaci korišteni za izračun preuzeti su iz *Ecoinvent* baze podataka za Republiku Hrvatsku, a ugljični otisak je određen prema potrošnji električne energije svakog procesa proizvodnje 3D printanih PVA kapsula punjenih

liofiliziranim biljnim materijalom i 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova s biljnim ekstraktima. Energija utrošena za sve procese je električna energija. Ekonomska isplativost proizvoda 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom i 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova s ekstraktom bilja određena je prema komercijalnim cijenama utrošenih sirovina te potrošnji energenata za jedinicu proizvoda (1 kapsula/ 1 hidrokolooidni gel).

4.2.15. Statistička obrada podataka

Analiza kovarijance (ANCOVA test) provedena je u programu XLStat (MS Excel 2010) kako bi se utvrdio utjecaj parametara na rezultate ukupnih polifenola, antioksidacijsku aktivnost, teksturu i boju jestivih gleova. U provedenoj analizi nezavisne varijable su: koncentracija škroba, vrsta škroba i vrsta biljke, a zavisne varijable su mjerni rezultati analiza jestivih hidrokolooidnih gelova: udio ukupnih polifenola, antioksidacijska aktivnost, tvrdoća, elastičnost, rad, čvrstoća hidrokolooidnog gela, naprezanje, kolorimetrijske vrijednosti L*, a* i b*, nijansa (H), kromatičnost (C), razlika kromatičnosti (ΔC), ukupna razlika obojenosti (ΔE) i ukupna razlika zasićenja (ΔH).

5. REZULTATI

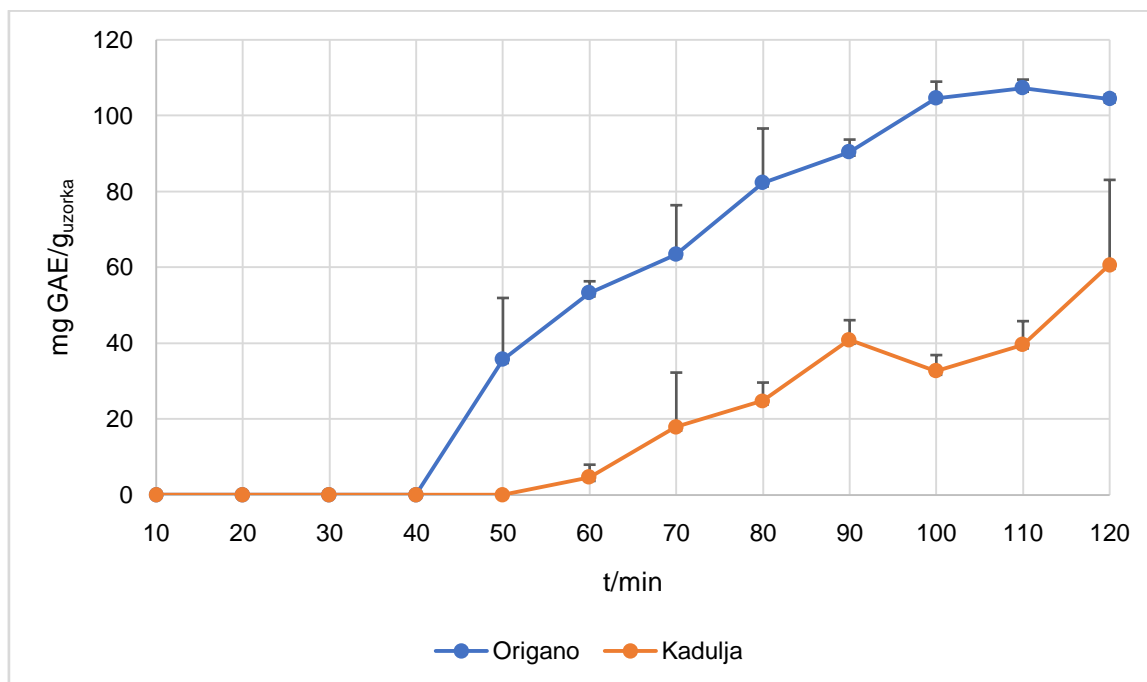
Poglavlje Rezultati prikazuje rezultate provedenih istraživanja, odnosno raspodjelu veličine čestica konvencionalno osušenih biljaka korištenih za proizvodnju biljnih ekstrakata te liofiliziranih biljaka korištenih kao punilo za kapsule; udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet ovisno o brzini oslobađanja iz kapsula punjenim različitim biljkama; udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet biljnih ekstrakata dobivenih HVED ekstrakcijom; udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet u jestivim hidrokolooidnim gelovima ovisno o primijenjenom biljnom ekstraktu, vrsti i udjelu škroba; rezultate instrumentalnih senzorskih metoda: teksture i boje; rezultate statističke analize kovarijanci; provedenu deskriptivnu senzorsku analizu jestivih hidrokolooidnih gelova; prosječni udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet u jednoj kapsuli, odnosno jednom hidrokolooidnom gelu; ugljični otisak za proizvodnju kapsule i jestivog hidrokolooidnog gela; cijena proizvodnje kapsula i jestivih hidrokolooidnih gelova.

5.1. Raspodjela veličine čestica

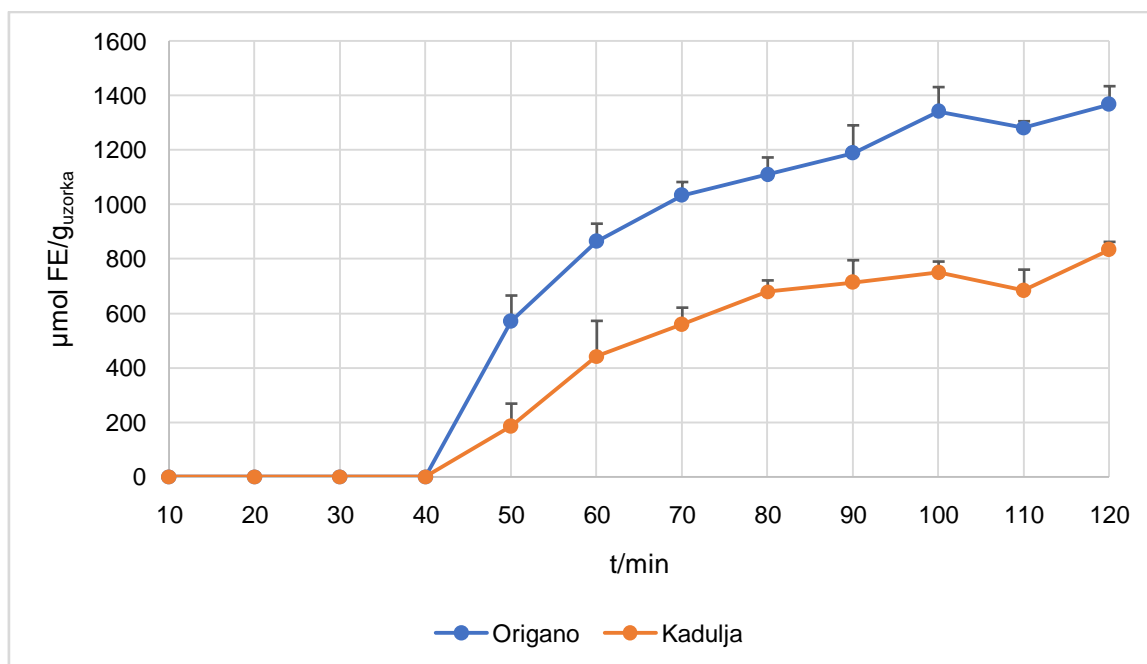
Tablica 11. Raspodjela veličine čestica liofiliziranih biljaka (kadulja i origano)

Biljka	D[3,2][μm]	d(0,1) [μm]	d(0,5) [μm]	d(0,9) [μm]
Kadulja - sušeno	141,149	149,203	286,107	457,655
Origano - sušeno	160,46	157,174	291,330	455,252
Kadulja - liofilizirano	67,933	24,699	175,081	387,145
Origano - liofilizirano	134,083	61,939	244,632	437,020

5.2. Ispitivanje brzine oslobađanja (*in vitro* ispitivanje)

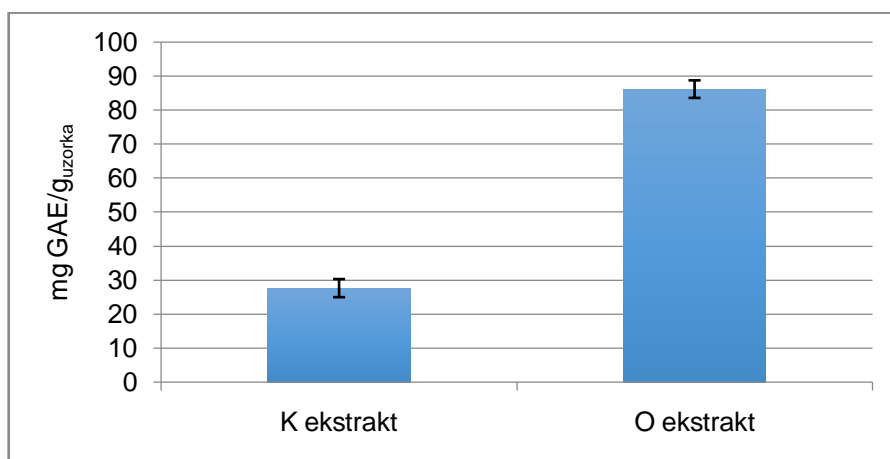


Slika 23. Brzina oslobađanja ukupnih polifenola iz 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim origanom i kaduljom

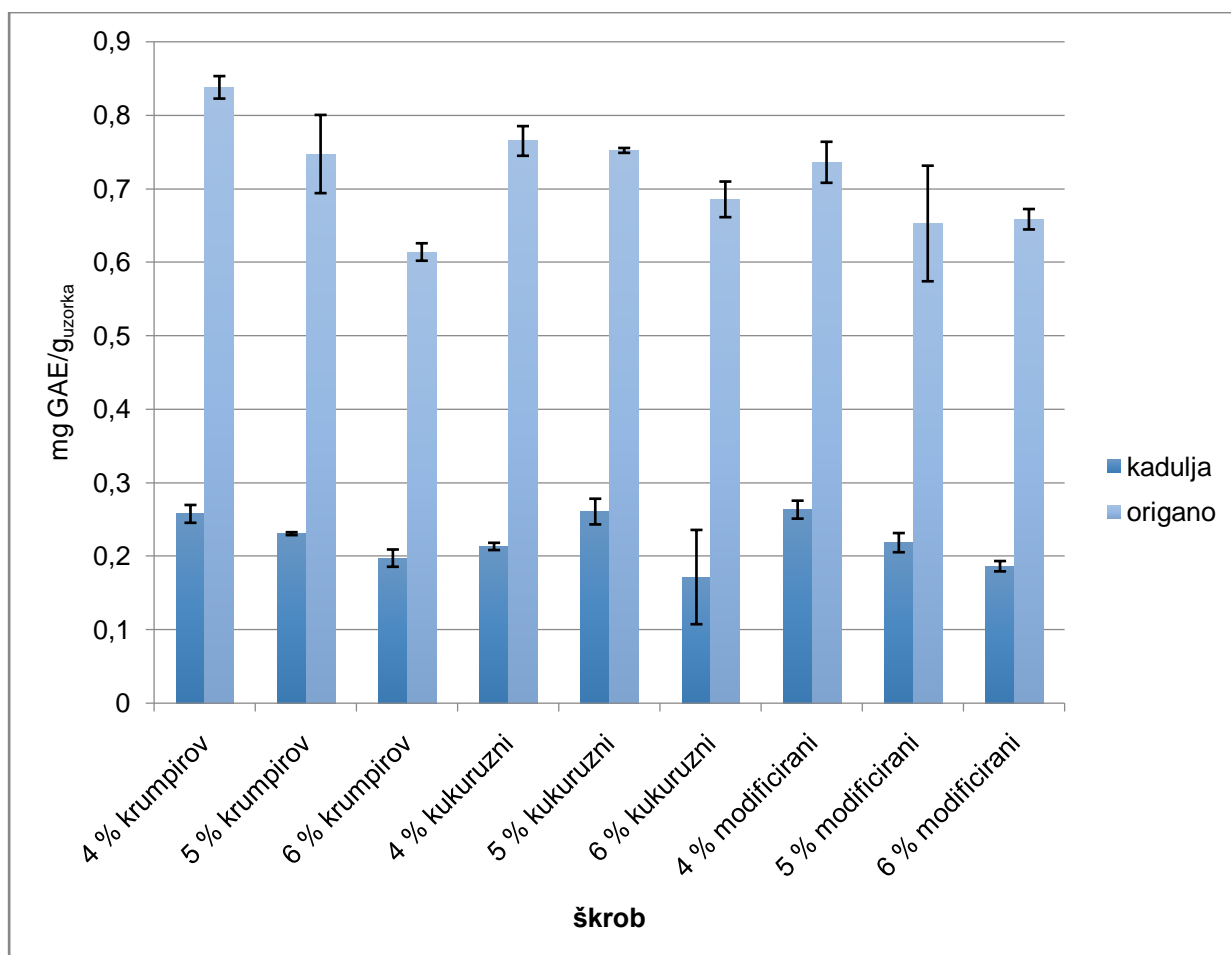


Slika 24. Brzina oslobađanja antioksidanasa iz 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim origanom i kaduljom određenih FRAP metodom

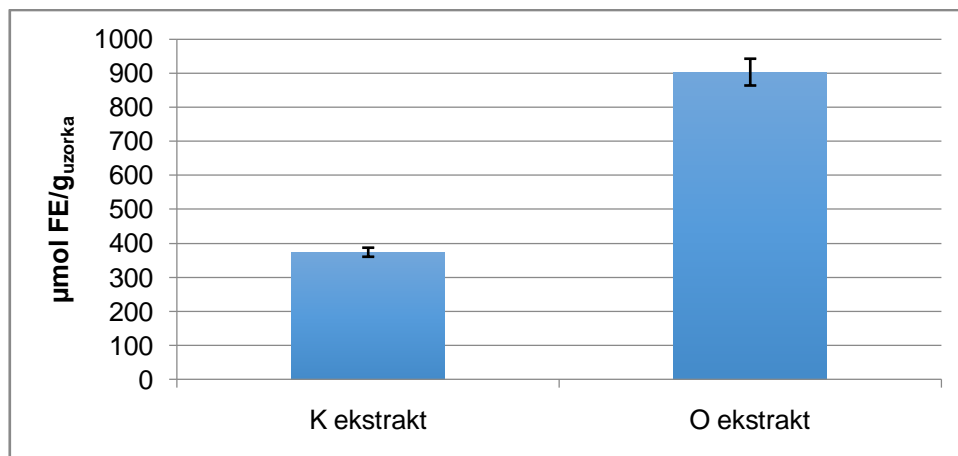
5.3. Kemijska analiza 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova



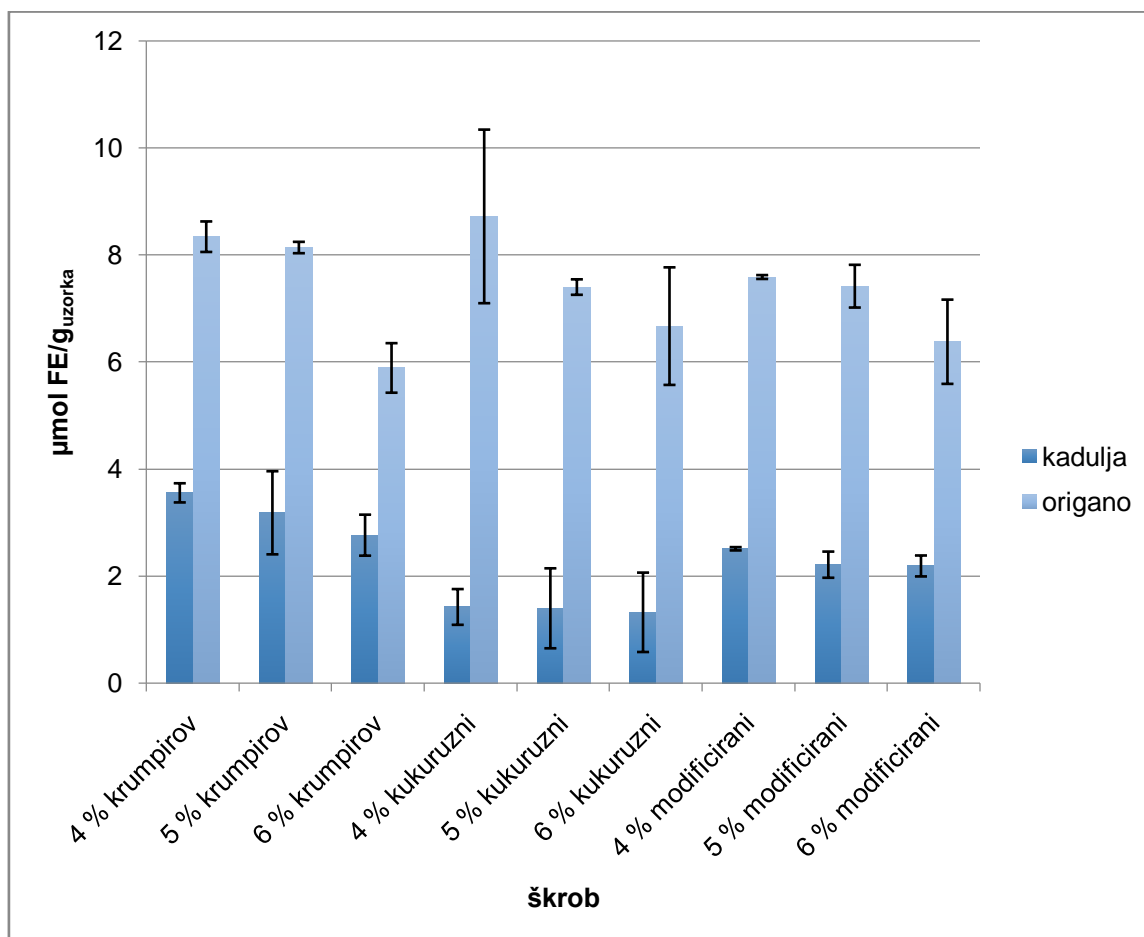
Slika 25. Usporedba udjela ukupnih polifenola (mg GAE/g_{uzorka}) u ekstraktima biljaka (kadulja - K i origano - O) dobivenim HVED ekstrakcijom



Slika 26. Usporedba udjela ukupnih polifenola (mg GAE/g_{uzorka}) u hidrokoloidnim gelovima od ekstrakata biljaka (origano i kadulja) ovisno o promijeni vrste i koncentracije škroba



Slika 27. Usporedba antioksidacijskog kapaciteta ($\mu\text{mol FE/g}_{\text{uzorka}}$) određenog FRAP metodom u ekstraktima biljaka (kadulja - K i origano - O) dobivenim HVED ekstrakcijom



Slika 28. Usporedba antioksidacijskog kapaciteta ($\mu\text{mol FE/g}_{\text{uzorka}}$) određenog FRAP metodom u hidrokoloidnim gelovima od ekstrakata biljaka (origano i kadulja) ovisno o promijeni vrste i koncentracije škroba

Tablica 12. Prosječni udio ukupnih polifenola i prosječna antioksidacijska aktivnost u 3D ispisanim kapsulama punjenim liofiliziranim materijalom i 3D ispisanom jestivom hidrokolooidnom gelu od različitih biljnih ekstrakata i škrobova

Proizvod	Biljka	Prosječni udio ukupnih polifenola u kapsuli/jestivom hidrokolooidnom gelu [mg GAE]	Prosječna antioksidacijska aktivnost u kapsuli/jestivom hidrokolooidnom gelu [μ mol FE]	
Kapsula	kadulja	7,806	108,321	
	origano	15,630	204,521	
Jestivi hidrokolooidni gel	Škrob	kr kadulja	1,290	17,815
		kuk kadulja	1,078	7,1955
		mod kadulja	1,326	12,645
		kr origano	4,213	40,944
		kuk origano	3,838	38,019
		mod origano	3,679	37,954

5.4. Analiza teksture jestivih hidrokoloidnih gelova

Tablica 13. Rezultati instrumentalne analize teksture

Uzorak	Tvrdoća [N]	Elastičnost [mm]	Rad [mJ]	Čvrstoća hidrokoloidnog gela [N]	Naprezanje [MPa]
K4%kr	0,636±0,007	2,137±0,170	4321,192±160,412	3,280±0,035	0,033±0,000
K5%kr	0,801±0,022	2,166±0,449	5596,497±412,242	4,136±0,111	0,042±0,001
K6%kr	0,826±0,104	2,103±0,136	5578,972±327,378	4,260±0,537	0,043±0,006
K4%kuk	1,118±0,022	2,132±0,316	8198,899±162,735	5,769±0,115	0,058±0,001
K5%kuk	1,329±0,044	2,197±0,049	7052,134±488,941	6,857±0,226	0,069±0,003
K6%kuk	0,983±0,023	2,091±0,086	5541,880±118,368	5,072±0,118	0,051±0,001
K4%mod	1,429±0,019	2,948±0,171	7756,438±131,402	7,376±0,097	0,074±0,001
K5%mod	0,928±0,018	2,368±0,080	5133,171±207,623	4,787±0,093	0,048±0,001
K6%mod	0,976±0,027	1,952±0,071	5509,477±481,873	5,034±0,140	0,051±0,001
O4%kr	0,858±0,036	2,922±0,141	5930,263±541,022	4,430±0,186	0,045±0,002
O5%kr	0,616±0,283	4,396±0,513	4585,003±590,585	3,179±1,460	0,032±0,015
O6%kr	0,528±0,434	2,295±0,320	3823,192±941,770	2,723±2,237	0,028±0,023
O4%kuk	0,605±0,014	1,672±0,158	4233,412±121,566	3,124±0,072	0,032±0,001
O5%kuk	1,223±0,047	2,169±0,315	6074,136±287,582	6,312±0,243	0,064±0,002
O6%kuk	0,742±0,005	2,023±0,931	4629,270±130,598	3,827±0,025	0,039±0,000
O4%mod	0,605±0,047	1,181±0,302	5673,329±3,191	3,121±0,243	0,031±0,002
O5%mod	0,890±0,068	1,977±0,226	5791,329±325,582	4,594±0,351	0,046±0,004
O6%mod	0,625±0,03	1,581±0,124	3289,803±45,116	3,227±0,161	0,033±0,002

* K - kadulja, O – origano, kr - nativni krumpirov škrob, kuk - nativni kukuruzni škrob, mod - modificirani kukuruzni škrob

5.5. Boja

Tablica 14. Rezultati određivanja boje uzoraka

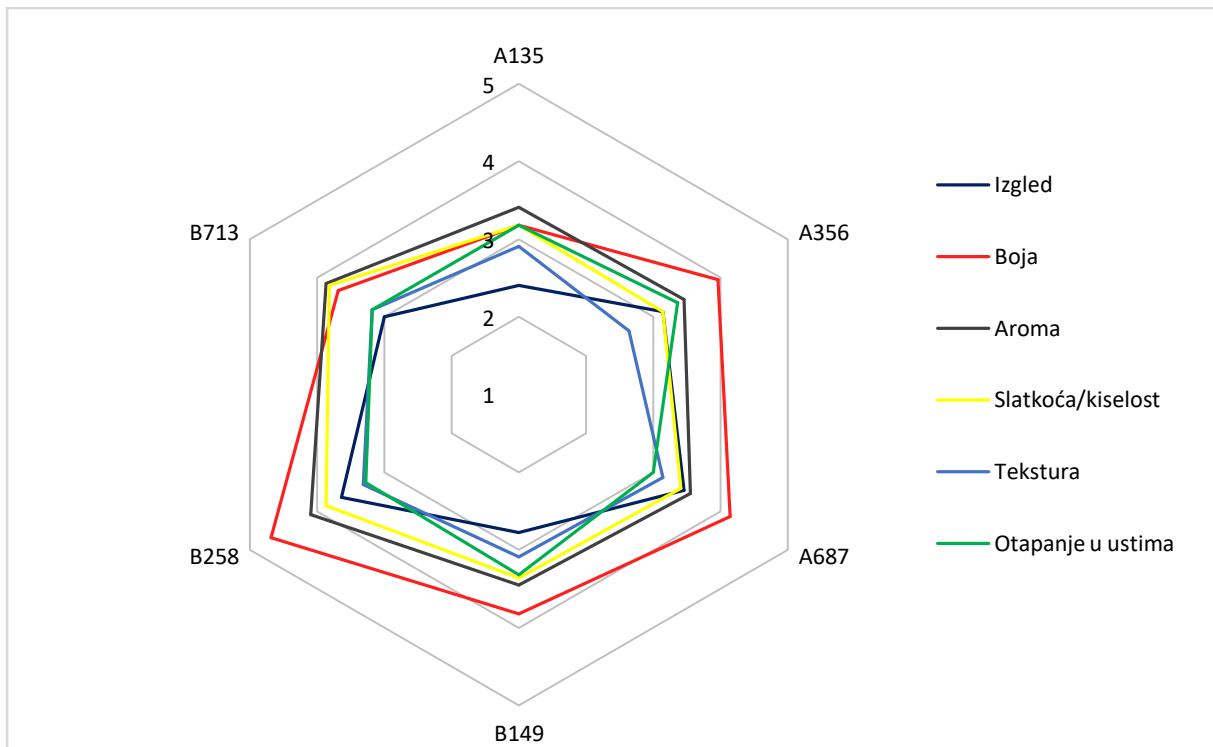
Uzorak	L*	a*	b*	C	H	ΔC	ΔH	ΔE
Smod	29,53±0,01	-0,77±0,01	-3,75±0,01	3,83±0,02	1,37±1,36	/	/	/
Skuk	43,29±0,36	-1,74±0,18	-5,95±0,47	6,19±0,51	1,29±1,29	/	/	/
Skr	32,81±0,35	-1,04±0,04	-4,93±0,24	5,04±0,24	1,36±1,37	/	/	/
K4%mod	28,11±0,60	-0,45±0,27	3,52±0,79	3,56±0,75	-1,43±0,11	-0,27±0,75	7,27±0,83	7,41±0,67
K4%kuk	36,63±0,17	-1,59±0,13	3,69±0,30	4,03±0,23	-1,16±0,11	-2,16±0,23	9,39±0,35	11,71±0,22
K4%kr	30,20±0,54	-1,14±0,09	2,63±0,59	2,87±0,57	-1,16±0,04	-2,17±0,57	7,24±0,64	8,00±0,41
K5%mod	27,30±0,35	-0,94±0,27	2,33±0,48	2,52±0,33	-1,18±0,26	-1,31±0,33	5,94±0,57	6,48±0,20
K5%kuk	38,83±0,03	-1,86±0,01	3,42±0,01	3,89±0,01	-1,07±0,00	-2,31±0,01	9,07±0,01	10,37±0,01
K5%kr	31,93±0,16	-0,77±0,14	3,14±0,36	3,28±1,40	-1,29±0,09	-1,76±1,40	7,88±0,24	8,12±0,27
K6%mod	27,39±0,11	-0,52±0,01	3,28±0,30	3,32±0,27	-1,41±0,02	-0,51±0,27	7,02±0,39	7,35±0,25
K6%kuk	38,97±0,84	-1,69±0,54	3,78±1,14	4,14±0,96	-1,15±0,06	-2,05±0,96	9,50±1,41	10,63±1,05
K6%kr	30,76±0,71	-0,60±0,08	4,41±0,06	4,45±0,05	-1,44±0,07	-0,59±0,05	9,33±0,06	9,57±0,21
O4%mod	28,43±0,14	2,79±0,28	2,75±0,36	3,91±0,45	0,78±0,02	0,08±0,45	7,40±0,44	7,48±0,42
O4%kuk	34,93±0,05	1,18±0,04	0,58±0,10	1,32±0,03	0,45±0,10	-4,88±0,03	5,22±0,13	10,99±0,05
O4%kr	28,33±0,40	1,11±0,22	0,89±0,41	1,42±0,32	0,67±0,12	-3,61±0,32	5,04±0,60	16,19±0,20
O5%mod	26,25±0,13	1,75±0,01	-0,25±0,15	1,77±0,08	-0,14±0,06	-2,06±0,08	3,79±0,27	5,42±0,00
O5%kuk	35,10±0,06	3,07±0,10	0,87±0,09	3,19±0,12	0,27±0,02	-3,00±0,12	7,78±0,19	11,69±0,14
O5%kr	28,94±0,10	1,67±0,04	0,42±0,10	1,73±0,05	0,23±0,17	-3,30±0,05	5,00±0,16	7,13±0,04
O6%mod	26,52±0,25	2,10±0,15	0,57±0,33	2,18±0,32	0,25±0,01	-1,64±0,32	4,92±0,67	5,99±0,14
O6%kuk	38,69±0,18	2,16±0,24	0,26±0,36	2,18±0,32	0,12±0,16	-4,02±0,32	6,13±0,73	8,65±0,27
O6%kr	30,40±0,18	1,22±0,11	2,33±0,12	2,62±0,16	1,09±0,04	-2,41±0,16	7,20±0,21	7,97±0,09

K – kadulja O – origano, S – standard, kr - nativni krumpirov škrob, kuk - nativni kukuruzni škrob, mod - modificirani kukuruzni škrob, L -svjetlina (od crnog do bijelog), a* - od zelenog do crvenog, b* - od plavog, do žutog, C – kromatičnost/ton boje, H – kut nijanse, ΔC – ukupna razlika kromatičnosti/tona boje, ΔH – ukupna razlika zasićenja, ΔE – ukupna razlika obojenosti,

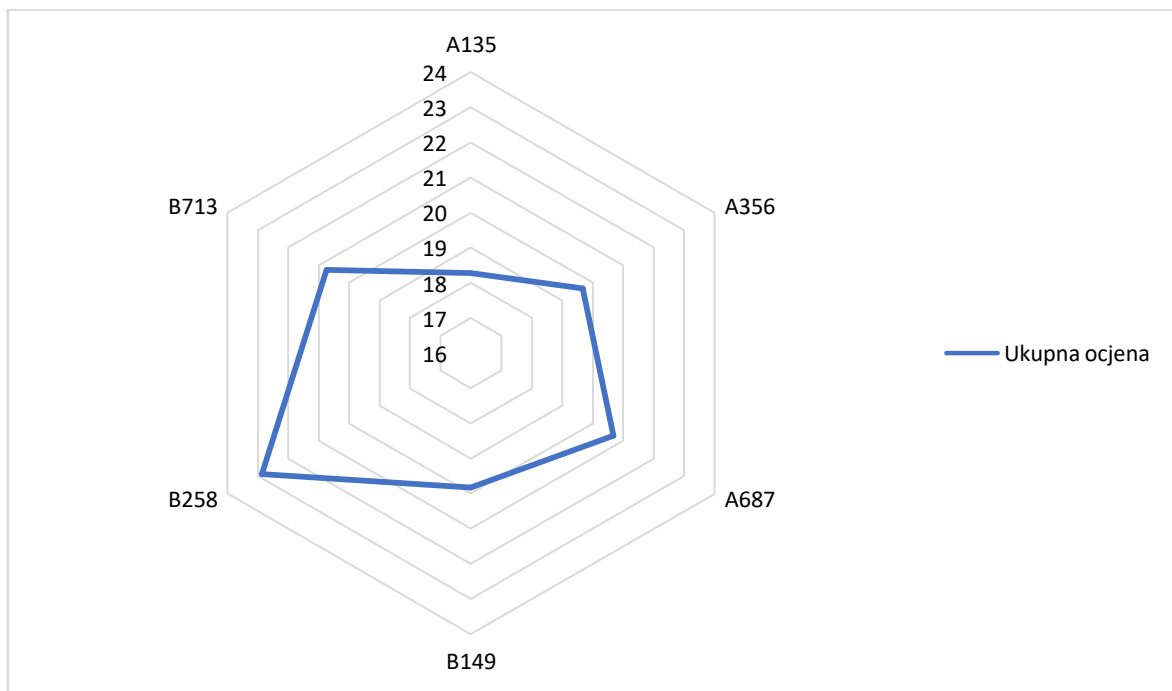
5.6. Senzorska analiza 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova

Tablica 15. Odgovori na pitanja iz listića za senzorsku analizu

Pitanje	Uzorci	Odgovor	Broj panelista
Što mislite, koja biljka je bila korištena za izradu hidrokoloidnih gelova?	A (kadulja)	Lavanda	2
		Melisa	2
		Menta	2
		Kadulja	4
		Ružmarin	1
		Limun	4
		Bazga	3
		Zeleni čaj	1
		Kopriva	2
		Limunska trava	2
	B (origano)	Brusnica	4
		Šipak	9
		Zeleni čaj	1
		Malina	1
		Jabuka	2
		Hibiskus	1
		Kadulja	2
		Smilje	1
		Marelica	1
Kopriva	1		
Koji od ponuđenih hidrokoloidnih gelova Vam je najbolji?	A135		2
	A356		2
	A687		2
	B149		1
	B258		12
	B713		4









Slika 29. Prikaz rezultata senzorne analize 3D printanih hidrokolooidnih gelova









Slika 30. Prikaz rezultata ukupne ocjene panela







Tablica 16.a. Slike 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova od nativnog krumpirovog škroba ovisno o udjelu škroba i primjenjenom biljnom ekstraktu

Vrsta škroba	Biljni ekstrakt	Udio škroba		
		4 %	5 %	6%
Nativni krumpirov škrob	origano			
	kadulja			

Tablica 16.b. Slike 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova od nativnog kukuruznog škroba ovisno o udjelu škroba i primjenjenom biljnom ekstraktu

Vrsta škroba	Biljni ekstrakt	Udio škroba		
		4 %	5 %	6%
Nativni kukuruzni škrob	origano			
	kadulja			

Tablica 16.c. Slike 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova od modificiranog kukuruznog škroba ovisno o udjelu škroba i primjenjenom biljnom ekstraktu

Vrsta škroba	Biljni ekstrakt	Udio škroba		
		4 %	5 %	6%
Modificirani kukuruzni škrob	origano			
	kadulja			



Slika 31. 3D printane PVA kapsule punjene liofiliziranim biljkama

5.7. Utjecaj procesa na okoliš i ekonomičnost proizvoda

Tablica 17. Izračun potrošnje energenata i ugljičnog otiska

Proces	Potrošnja [W]	Trajanje procesa	Potrošnja energije po trajanju procesa [kWh]	Cijena stuje za proces [kn]	Ugljični otisak [kgCO ₂]
HVED	613,33	9 min	0,092	0,042	0,043
3D printanje jestivih hidrokolooidnih gelova	180	20 min	0,06	0,027	0,028
Zagrijavanje	500	15 min	0,125	0,058	0,058
Ukupno			0,277		0,129
Liofilizacija	800	24 h	19,2	8,88	8,97
3D printanje kapsula	350	41 min	0,239	0,109	0,112
Ukupno			19,439		9,082

Tablica 18. Ekonomska isplativost 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom i 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima

Proizvod	Materijal/proces	Komercijalna cijena	Cijena po funkcionalnoj jedinici [kn]	Prosječna cijena po 1 kapsuli/ 1 hidrokoloidnom gelu
Kapsule				9,42 kn / kapsuli
	Zagrijavanje	/	0,109	
	Liofilizacija	/	8,83	
	Biljka	54 kn/1000 g	0,0081	
	Filament	308 kn/500 g	0,472	
Hidrokoloidni gelovi				0,25 kn / hidrokoloidnom gelu
	Agar	45 kn/60 g	0,94	
	Biljka	54 kn/1000 g	0,054	
	HVED ekstrakcija	/	0,042	
	Šećer	5 kn/1000 g	0,05	
	Limunska kiselina	4 kn/100 g	0,02	
	Nativni kukuruzni škrob (4 % - 5 % - 6 %)	8 kn/500 g	0,03 – 0,04 – 0,05	
	Nativni krumpirov škrob (4 % - 5 % - 6 %)	11 kn/500 g	0,04 – 0,06 – 0,07	
	Modificirani kukuruzni škrob (4 % - 5 % - 6 %)	48 kn/1000 g	0,09 – 0,12 – 0,14	
	Zagrijavanje	/	0,058	
	Printanje	/	0,027	

Tablica 19. Statistički značaj (*p*-vrijednosti) ispitanih varijabli

	Koncentracija škroba	Vrsta škroba	Vrsta biljke
TPC	< 0.0001	0,062	< 0.0001
FRAP	0,002	0,068	< 0.0001
Tvrdoća	0,297	0,035	0,001
Elastičnost	0,569	0,021	0,953
Rad	0,003	0,178	0,001
Čvrstoća hidrokoloidnog gela	0,297	0,035	0,001
Naprezanje	0,318	0,038	0,001
L*	0,033	< 0.0001	0,001
a*	0,593	0,031	< 0.0001
b*	0,794	0,463	< 0.0001
H	0,336	0,083	< 0.0001
C	0,359	0,649	< 0.0001
ΔC	0,178	0,001	< 0.0001
ΔL	0,015	0,043	0,007
Δa	0,593	0,261	< 0.0001
Δb	0,794	0,000	< 0.0001
ΔE	0,019	0,001	0,756

*crveno označene vrijednosti označavaju statistički značajne vrijednosti ($p \leq 0,05$)

Tablica 20. Vrijednosti korelacija ispitanih varijabli

	Koncentracija a škroba	Vrsta škroba	Vrsta biljke	TPC	FRAP	Tvrdoća	Elastičnost	Rad	Čvrstoća	Naprezanje	L*	a*	b*	H	C	ΔC	ΔL	Δa	Δb	ΔE	ΔH
Koncentracija škroba	1	0,000	0,000	-0,151	-0,156	-0,142	-0,092	-0,414	-0,143	-0,137	0,095	0,033	0,026	-0,052	0,122	0,148	0,334	0,033	0,022	-0,308	0,105
Vrsta škroba		1	0,000	-0,061	-0,086	0,296	-0,391	0,177	0,296	0,292	-0,258	0,138	-0,075	-0,095	0,060	0,405	0,274	0,070	-0,341	-0,447	-0,208
Vrsta biljke			1	0,971	0,941	-0,474	0,010	-0,465	-0,474	-0,475	-0,160	0,925	-0,825	0,949	-0,652	-0,524	-0,378	0,924	-0,697	0,039	-0,648
TPC				1	0,956	-0,413	0,081	-0,392	-0,413	-0,415	-0,135	0,897	-0,804	0,933	-0,659	-0,583	-0,492	0,906	-0,652	0,175	-0,629
FRAP					1	-0,470	0,089	-0,431	-0,470	-0,472	-0,283	0,900	-0,826	0,866	-0,695	-0,535	-0,384	0,870	-0,735	0,043	-0,710
Tvrdoća						1	0,172	0,823	1,000	1,000	0,262	-0,395	0,344	-0,519	0,410	0,224	-0,090	-0,334	0,352	0,219	0,384
Elastičnost							1	0,134	0,172	0,173	-0,129	-0,064	-0,132	-0,023	-0,254	-0,214	-0,160	-0,086	-0,088	0,081	-0,177
Rad								1	0,823	0,821	0,239	-0,415	0,448	-0,463	0,491	0,271	-0,124	-0,362	0,444	0,320	0,455
Čvrstoća									1	1,000	0,262	-0,395	0,344	-0,519	0,410	0,224	-0,090	-0,334	0,352	0,219	0,384
Naprezanje										1	0,264	-0,397	0,346	-0,521	0,410	0,221	-0,091	-0,335	0,354	0,221	0,385
L*											1	-0,254	0,190	-0,115	0,317	-0,338	-0,238	-0,009	0,632	0,476	0,574
a*												1	-0,726	0,833	-0,474	-0,308	-0,193	0,967	-0,691	-0,092	-0,561
b*													1	-0,689	0,888	0,680	0,401	-0,725	0,856	0,088	0,866
H														1	-0,577	-0,492	-0,398	0,838	-0,557	0,133	-0,522
C															1	0,710	0,433	-0,440	0,800	0,041	0,921
ΔC																1	0,647	-0,441	0,276	-0,391	0,440
ΔL																	1	-0,307	0,094	-0,850	0,217
Δa																		1	-0,564	0,056	-0,454
Δb																			1	0,404	0,953
ΔE																				1	0,289
ΔH																					1

*crveno označene vrijednosti označavaju visokistupanj korelacije

6. RASPRAVARaspodjela veličine čestica

Biljni materijal je prije analize raspodjele veličine čestica usitnjen u svrhu što bolje homogenizacije. Veličina čestica predstavlja jedan od važnijih parametara kod topljenja i ekstrakcije.

Raspodjela veličine čestica određena je principom laserske difrakcije, a dobiveni parametri (Tablica 11) uključuju: Sauterov promjer $D[3,2]$ koji predstavlja specifičnu dodirnu površinu, odnosno ukupnu dodirnu površinu svih čestica podijeljenu s masom uzorka. Prema rezultatima uzorci sušenog biljnog materijala imaju veći $D[3,2]$ (141,149 μm za kadulju i 160,4 μm za origano) u odnosu na liofilizirani biljni materijal (67,999 μm za kadulju i 134,083 μm za origano) čime se može zaključiti kako sušeni biljni materijal ima veću specifičnu dodirnu površinu. Veća specifična površina (omjer površine prema volumenu) povećava kontakt ekstrakcijskog sredstva s krutom fazom i pospješuje se stupanj ekstrakcije. Kod biljnog materijala, osim povećanja specifične površine, povećava se i stupanj oštećenja stanične stijenke što olakšava proces difuzije i povećava prinos (del Valle i Uquiche, 2002).

Parametar $d(0,1)$ predstavlja promjer čestice od kojeg 10 % svih čestica uzorka ima manji promjer, za sušeni biljni materijal iznosi 149,203 μm za kadulju i 157,174 μm za origano, dok za liofilizirani biljni materijal iznosi 24,699 μm za kadulju i 61,939 μm za origano. $d(0,5)$ predstavlja promjer čestice od kojeg 50 % svih čestica uzorka ima veći promjer i 50% svih čestica uzorka ima manji promjer i za uzorke sušenog biljnog materijala iznosi 286,107 μm za kadulju i 291,330 μm za origano, dok za liofilizirani biljni materijal iznosi 175,081 μm za kadulju i 244,632 μm za origano. $d(0,9)$ predstavlja promjer čestice od kojeg 90 % svih čestica uzorka ima manji promjer i za uzorke sušenog biljnog materijala iznosi 457,655 μm za kadulju i 455,252 μm za origano, dok za liofilizirani biljni materijal iznosi 387,145 μm za kadulju i 437,020 μm za origano. Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako je postignuta uniformna raspodjela veličine čestica i sušenog i liofiliziranog biljnog materijala prema svim parametrima.

6.2. Kapsule

Za 3D printanje kapsula korišten je PVA filament koji je farmaceutski prihvaćen te se često koristi u formulacijama lijekova koje zahtijevaju kontrolirano oslobađanje djelatne tvari. Osim toga, PVA je komercijalno dostupan, topiv u vodi i netoksičan te je kao takav često korišten materijal za 3D ispis oralnih oblika lijekova (Matijašić i sur., 2019). 3D printane kapsule omogućuju fleksibilnost doziranja što je vrlo bitno u ranim fazama razvoja lijeka te

omogućavaju personalizaciju lijeka, kako sastavom, tako i oblikom i bojom (Milićević i sur., 2019).

6.2.1. Brzina oslobađanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula

Nakon printanja kapsula i punjenja liofiliziranim biljkama (kadulja, origano) (Slika 31), provedeno je *in vitro* ispitivanje brzine oslobađanja bioaktivnih komponenti, ukupnih polifenola i antioksidansa iz biljnog materijala. Ispitivanje je provedeno u vremenu od 120 minuta u 0,1 M HCl, pH 1,2 što imitira uvjete u želucu. Na temelju dobivenih rezultata iz Slika 23 i 24, vidljivo je kako otpuštanje bioaktivnih komponenti iz kapsula počinje u $t=50$ min, odnosno $t=60$ min nakon početka ispitivanja te se može zaključiti kako otpuštanje bioaktivnih komponenti direktno ovisi o debljini kapsule što se može povezati sa rezultatima Matijašić i sur. (2019) gdje je ispitivano *in vitro* otpuštanje boje iz 3D printanih PVA kapsula debljina stijenki 0,2, 0,3, 0,4 i 0,5 mm. Vrijeme otpuštanja boje za te kapsule je iznosilo je 140, 343, 860 i 1890 sekundi. Milićević i sur. (2019) ispitivali su otpuštanje dronedarona iz 3D printanih PVA kapsula debljina stijenki 0,75, 1,25 i 1,5 mm te su dobivena vremena otpuštanja iznosila 40,8, 73,1 i 104 minute čime se potvrđuje kako je vrijeme otpuštanja aktivnih komponenti direktno ovisno o debljini stijenki kapsula, što je sukladno s dobivenim rezultatima za 3D printane PVA kapsule punjene liofiliziranim biljnim materijalom.

Prema Milićević i sur. (2019) kinetika oslobađanja se može podijeliti u 3 razdoblja: razdoblje odgode u kojem nema oslobađanja te je ovisno o debljini stijenke i geometriji modela; razdoblje difuzije koje se očituje u pojavi niskih koncentracija uzrokovanih difuzijom komponenata kroz nabubrene polimerne lance te razdoblje erozije u kojem dolazi do naglog porasta koncentracije uzrokovano razaranjem polimera. Razdoblje odgode u svim uzorcima je od $t=10$ min do $t=50$ min, izuzev uzorka origana kod ukupnih polifenola, gdje to razdoblje traje do $t=40$ min čime se potvrđuje da je razdoblje odgode ovisno o debljini stijenke i geometriji, s obzirom na to da su sve kapsule jednake. Razdoblje difuzije u svim uzorcima započinje u $t=60$ min, izuzev uzorka origana kod ukupnih polifenola, gdje to razdoblje započinje u $t=50$ min. Razdoblje erozije je kod svih uzoraka uočljivo u $t=90$ min što se očituje porastom koncentracije ukupnih fenola i antioksidansa (Slike 23 i 24).

6.2.2. Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet

Na temelju dobivenih rezultata i grafičkog prikaza (Slike 23 i 24) otpuštanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula ispunjenih liofiliziranim biljnim materijalom ovisno o vremenu, vidljivo je da origano sadrži značajno veći udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet u odnosu na kadulju, uzimajući u obzir referentna vremena od $t=60$ min, $t=90$ min i $t=120$ min. Referentno vrijeme $t=60$ min je uzeto kao vrijeme prve pojave bioaktivnih komponenti kod svih uzoraka, odnosno početka razdoblja difuzije, $t=120$ min je vrijeme

zadnjeg uzorkovanja kod metode, a $t=90$ min, kao srednje vrijeme od vremena prve pojave bioaktivnih komponenti i zadnjeg vremena uzorkovanja, a ujedno označava i vrijeme kada nastupa razdoblje erozije kapsula.

U vremenu $t=60$ min koje označava početak otpuštanja bioaktivnih komponenti očitane su najmanje vrijednosti ukupnih polifenola. Uspoređujući dvije različite biljke uočava se veća vrijednost ukupnih polifenola u uzorku origana ($53,326 \pm 2,990$ mg GAE/g_{uzorka}) u odnosu na uzorak kadulje ($4,644 \pm 3,284$ mg GAE/g_{uzorka}). Jednaki trend otpuštanja bioaktivnih komponenti nastavlja se tijekom cijeloga procesa oslobađanja gdje je veći udio ukupnih polifenola prisutan u uzorku origana. U $t=90$ min uzorak origana sadrži $90,461 \pm 3,241$ mg GAE/g_{uzorka}, dok uzorak kadulje sadrži $49,743 \pm 5,215$ mg GAE/g_{uzorka}, a u $t=120$ min očitane su najveće vrijednosti ukupnih polifenola gdje uzorak origana sadrži $104,457 \pm 1,138$ mg GAE/g_{uzorka}, dok uzorak kadulje sadrži $60,620 \pm 22,447$ mg GAE/g_{uzorka}. Dobivene vrijednosti mogu se povezati i s antioksidacijskim kapacitetom određenim FRAP metodom. Uzimajući u obzir referentna vremena, uzorak origana u $t=60$ min sadrži $863,879 \pm 66,081$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, dok uzorak kadulje sadrži $441,866 \pm 130,990$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, u $t=90$ min uzorak origana sadrži $1188,794 \pm 102,503$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, dok uzorak kadulje sadrži $712,801 \pm 82,889$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, a u $t=120$ min uzorak origana sadrži $1366,815 \pm 68,359$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, dok uzorak kadulje sadrži $833,454 \pm 29,706$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$ čime se može zaključiti kako je antioksidacijski kapacitet u direktnoj korelaciji s udjelom ukupnih fenola (Faller i Fialho, 2009). Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti kako origano ima značajno veći udio ukupnih fenola i pokazuje veći antioksidacijski kapacitet u odnosu na kadulju što je u skladu s istraživanjima autora Cioroi i Dumitriu (2009); Wojdyło i sur. (2007); Exarchou i sur. (2002); Albanoa i Miguel (2011) u kojima origano ima veći udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet neovisno o načinu ekstrakcije iprimjenjenom ekstrakcijskom sredstvu.

6.3. Jestivi hidrokolidni gelovi

Diljem svijeta sve je veći udio stare populacije smještene u staračkim domovima s problemima žvakanja i gutanja (Liu i sur., 2017), a djeca odbijaju namirnice koje ne "izgledaju dobro" (Birch i sur., 1998) te su gorkog okusa (McBurney i Gent, 1979) što može ustrajati i do odrasle dobi (Stein i sur., 2003). Primjena aditivnih tehnika omogućava proizvodnju funkcionalnih hidrokolidnih gelova koji sadrže biljne ekstrakte dobivene nekonvencionalnim tehnikama.

6.3.1. Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet

Ekstrakcija različitim otapalima najčešća je tehnika pripreme ekstrakta biljnog materijala, a udjeli ekstrahiranih polifenola ovise o fizikalno-kemijskim karakteristikama ekstrahiranog uzorka, polarnosti otapala, vremenu i temperaturi ekstrakcije (Bors i sur., 2019). Usporedbom učinkovitosti konvencionalne ekstrakcije i HVED ekstrakcije bioaktivnih spojeva kadulje, pripremom metanolnih ekstrakata, HVED ekstrakcijom dobiven je 2,1 puta veći fenolni sadržaj i 2,2 puta veće antioksidacijsko djelovanje (Nutrizio i sur., 2019). Visoki potencijal HVED ekstrakcije potvrđen je i usporedbom konvencionalne ekstrakcije i HVED ekstrakcije origana različitim vrstama otapala (voda, etanol). Analizom je potvrđena 0,9-6,5 puta veća učinkovitost HVED ekstrakcija provedene u istim uvjetima kao i konvencionalna ekstrakcija (Nutrizio i sur., 2020). Parametri HVED ekstrakcije ($f=100$ Hz; trajanje pulsa= $0,4$ μ s; $U=25$ kV) za pripremu biljnih ekstrakata bazirani su na istraživanjima Nutrizio i sur. (2020) prema kojima dani uvjeti za plin dušik daju najbolje iskorištenje ekstrakcije. U ekstraktima dobivenim HVED ekstrakcijom udio ukupnih polifenola određen u uzorku kadulje iznosi $27,649 \pm 2,658$ mg GAE/ g_{uzorka} , a u uzorku origana $86,124 \pm 2,583$ mg GAE/ g_{uzorka} (Slika 25). Antioksidacijski kapacitet određen je FRAP metodom te se dobiveni rezultati mogu povezati s udjelom polifenola. Provedenom analizom antioksidacijski kapacitet određen FRAP metodom u ekstraktu kadulje dobivenom HVED ekstrakcijom iznosi $374,400 \pm 13,338$ μ mol FE/ g_{uzorka} , a u ekstraktu origana $903,738 \pm 39,350$ μ mol FE/ g_{uzorka} (Slika 27).

Prema količini ukupnih polifenola i antioksidacijskom kapacitetu dviju biljaka može se zaključiti da origano ($86,124 \pm 2,583$ mg GAE/ g_{uzorka} ; $903,738 \pm 39,350$ μ mol FE/ g_{uzorka}) posjeduje veću količinu ukupnih polifenola i jači antioksidacijski kapacitet od kadulje ($27,649 \pm 2,658$ mg GAE/ g_{uzorka} ; $374,400 \pm 13,338$ μ mol FE/ g_{uzorka}). Wojdylo i sur. (2007) proveli su kemijsku analizu metanolnih ekstrakata 32 različite biljke. Odredili su antioksidacijsku aktivnost metanolnog ekstrakta kadulje ($167 \pm 1,01$ μ M Trolox/100 g s.t.) i origana ($405 \pm 2,22$ μ M Trolox/100 g s.t.) FRAP metodom te je utvrđen jači antioksidacijski kapacitet origana. Rezultati dobiveni u ovom radu su sukladni rezultatima prethodnih istraživanja, a neka neslaganja mogu se pripisati različitim uvjetima ekstrakcije te biološkim karakteristikama sirovine.

Kako bi se prehrambeni materijal mogao ispisati pomoću 3D printera on se mora lako ekstrudirati iz mlaznice te zadržati strukturu nakon taloženja (Perez i sur., 2019). Za ekstruzijski 3D ispis prehrambeni materijali moraju posjedovati pseudoplastična svojstva te brzo skrućivanje strukture nakon ekstrudiranja (Zheng i sur., 2019). U preliminarnom istraživanju ispitane su različite koncentracije škroba te su odabrane najbolje 3 koncentracije ovisno o svojstvima prehrambenog materijala i njegovoj printabilnosti. Koncentracije škroba

od 1 do 3 % davale su proizvod pretekuće konzistencije, a koncentracije škroba veće od 6 % tvorile su vrlo viskozni prehrambeni materijal koji u vrlo kratkom roku očvrstne što otežava ekstruziju prilikom 3D ispisa. Stoga su za ispis 3D printanih hidrokolooidnih gelova korištene koncentracije škrobova 4 %, 5 % i 6 %.

U razvijenoj recepturi jestivog hidrokolooidnog gela konstantan je udio agara, šećera i limunske kiseline, a promjenom udjela škroba mijenja se udio ekstrakta: ako je veći udio škroba, manji je udio ekstrakta i obrnuto ako je manji udio škroba, veći je udio ekstrakta. Na Slici 26 prikazani su udjeli (mg GAE/g_{uzorka}) ukupnih polifenola u hidrokolooidnim gelovima s ekstraktima biljaka (origano i kadulja) ovisno o promjeni vrste i koncentracije škroba. Najveći udio polifenola određen je u uzorcima jestivih hidrokolooidnih gelova koji sadrže 4 % škroba, odnosno 72,5 % biljnog ekstrakta, a najmanji udio polifenola određen je u uzorcima koji sadrže 6 % škroba, odnosno 70,5 % biljnog ekstrakta.

Uspoređujući udio ukupnih polifenola ovisno o upotrebljenom biljnom ekstraktu, neovisno o upotrebljenom škrobu, jestivi hidrokolooidni gelovi s ekstraktom origana pokazuju i do 2,6 puta veći udio ukupnih polifenola u odnosu na jestive hidrokolooidne gelove s ekstraktom kadulje. Najveći udio polifenola nalazimo u jestivom hidrokolooidnom gelu koji sadrži 4 % krumpirovog škroba te biljni ekstrakt origana ($0,838 \pm 0,015$ mg GAE/g_{uzorka}), a najmanji udio ukupnih polifenola nalazimo u jestivom hidrokolooidnom gelu koji sadrži 6 % kukuruznog škroba te biljni ekstrakt kadulje ($0,171 \pm 0,064$ mg GAE/g_{uzorka}) (Slika 27). Udio ukupnih polifenola može se povezati i s antioksidacijskim kapacitetom jestivih hidrokolooidnih gelova određenim FRAP metodom (Slika 28). Jači antioksidacijski kapacitet i do 5,3 puta pokazuju jestivi hidrokolooidni gelovi od ekstrakta origana u odnosu na jestive hidrokolooidne gelove kadulje.

Najveći antioksidacijski kapacitet sadrži jestivi hidrokolooidni gel koji sadrži 4 % krumpirovog škroba te sadrži biljni ekstrakt origana ($8,319 \pm 0,285$ μ mol FE/g_{uzorka}), a najmanji antioksidacijski kapacitet sadrži jestivi hidrokolooidni gel koji sadrži 6 % kukuruznog škroba te ekstrakt kadulje ($0,798 \pm 0,742$ μ mol FE/g_{uzorka}). Vidljive su razlike u udjelu polifenola i antioksidacijskom kapacitetu jestivih hidrokolooidnih gelova između istih koncentracija škroba i ekstrakata biljaka što se može povezati s postupkom izrade jestivih hidrokolooidnih gelova i svojstvima korištenog škroba.

Priprema prehrambenog materijala za 3D ispis nije u potpunosti netermalni proces, već se ekstrakt zagrijava do temperature od 80 do 85 °C kako bi se omogućilo otapanje agara, a potom i želatinizacija škroba. Granule nativnog krumpirovog škroba želatiniziraju na temperaturi od 64 °C, granule nativnog kukuruznog škroba na 75 °C (Singh i Singh, 2003), a modificirani škrobovi imaju nižu temperaturu želatinizacije u odnosu na native škrobove (Huang, 2018). Nakon otapanja svih sastojaka prehrambeni materijal se hladi do

temperature od 60 °C te puni u uložak ekstrudera, pri čemu posjeduje sva potrebna svojstva za 3D ispis jestivih hidrokoloidni gelova. Turturica i sur. (2015) proučavali su utjecaj zagrijavanja na stabilnost polifenola i antioksidacijsku aktivnosti u ekstraktu šljive. Prema rezultatima, zagrijavanje ekstrakta šljive na temperaturama od 90 do 110 °C uočeno je smanjenje polifenolnih spojeva od 43 do 77 % što je utjecalo i na smanjenje antioksidacijske aktivnosti. Temperatura od 80 do 85 °C za pripremu jestivih hidrokoloidnih gelova niža je od temperature koja uzrokuje degradaciju ukupnih polifenola i smanjenje antioksidacijske aktivnosti.

6.3.2. Tekstura

Prema rezultatima provedene instrumentalne analize teksture (Tablica 11) određeni su sljedeći parametri: tvrdoća koja predstavlja maksimalan otpor površine jestivog hidrokoloidnog gela na pritisak sonde; elastičnost koja predstavlja udaljenost sonde do točke loma, rad koji je potreban za žvakanje, čvrstoća hidrokoloidnog gela koja predstavlja silu potrebnu za komprimiranje površine hidrokoloidnog gela za 4 mm te naprezanje koje predstavlja mjeru sile po jedinici površine i predstavlja deformaciju uzorka (Belščak-Cvitanović i sur., 2014; Tabilo-Munizaga i Barbosa-Cánovas, 2005).

Kod 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s ekstraktom kadulje i nativnim krumpirovim škrobom najveću tvrdoću ($0,826 \pm 0,104$ N), čvrstoću ($4,260 \pm 0,537$ N) i naprezanje ($0,043 \pm 0,006$ MPa) ima uzorak K6%kr, dok najveću elastičnost ($2,166 \pm 0,449$ mm) i rad ($5596,497 \pm 412,242$ mJ) posjeduje uzorak K5%kr. Kod uzoraka s nativnim kukuruznim škrobom, najveću tvrdoću ($1,329 \pm 0,044$ N), elastičnost ($2,197 \pm 0,049$ mm), čvrstoću ($6,857 \pm 0,226$ N) i naprezanje ($0,069 \pm 0,003$ MPa) ima uzorak K5%kuk, a najveći rad uzorak K4%kuk ($8198,899 \pm 162,735$ mJ). U uzorcima s modificiranim kukuruznim škrobom, najveće vrijednosti analize teksture, tvrdoća ($1,429 \pm 0,019$ N), elastičnost ($2,948 \pm 0,171$ mm), rad ($7756,438 \pm 131,402$ mJ), čvrstoća ($7,376 \pm 0,097$ N) i naprezanje ($0,074 \pm 0,001$ MPa) određene su za uzorak K6%mod.

Kod 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s ekstraktom origana i nativnim krumpirovim škrobom najveću tvrdoću ($0,858 \pm 0,036$ N), rad ($5930,263 \pm 541,022$ mJ), čvrstoću ($4,430 \pm 0,186$ N) i naprezanje ($0,045 \pm 0,002$ MPa) ima uzorak O4%kr dok najveću elastičnost ($4,396 \pm 0,513$ mm) ima uzorak O5%kr. Kod uzoraka s nativnim kukuruznim škrobom, najveću tvrdoću ($1,223 \pm 0,047$ N), elastičnost ($2,169 \pm 0,315$ mm), rad (mJ), čvrstoću ($6074,136 \pm 287,582$ N) i naprezanje ($0,064 \pm 0,002$ MPa) ima uzorak O5%kuk. U uzorcima s modificiranim kukuruznim škrobom, sve vrijednosti analize teksture; tvrdoća ($0,890 \pm 0,068$ N), elastičnost ($1,977 \pm 0,226$ mm), rad ($5791,329 \pm 325,582$ mJ), čvrstoća ($4,594 \pm 0,351$ N) i naprezanje ($0,046 \pm 0,004$ MPa) najviše su za uzorak K6%mod.

Temeljem dobivenih rezultata uočena je korelacija rezultata tvrdoće 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova s ostalim parametrima analize teksture. U uzorcima s ekstraktom origana, tvrdoća hidrokolooidnih gelova je proporcionalna svim ostalim parametrima teksture, dok u uzorcima s ekstraktom kadulje tvrdoća je proporcionalna čvrstoći i naprezanju, a minimalne razlike su uočene u parametrima elastičnosti i potrebnog rada. Najveće razlike u teksturalnim parametrima između pojedinih škrobova uočene su kod modificiranog kukuruznog škroba, uzorci s ekstraktom kadulje i 4 % modificiranog škroba pokazuju najviše vrijednosti parametara teksture, dok u uzorcima s ekstraktom origana najviše vrijednosti parametara teksture dobivene su za 5 % modificiranog kukuruznog škroba. Nedosljednosti i razlike između pojedinih uzoraka i škrobova mogu se objasniti fenomenom retrogradacije škroba uslijed produljenog vremena i uvjeta skladištenja što direktno utječe na teksturalna svojstva (Zheng i sur., 2019).

6.3.3. Boja

Boja predstavlja vjerojatno najvažniji čimbenik u odabiru hrane te je u izravnoj vezi sa psihološkom percepcijom okusa i ukusa te kao takva, boja je od iznimne važnosti u prihvaćanju i konačnom doživljaju prehrambenih proizvoda (Spence, 2015).

Prema parametrima boje za uzorke 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova, hidrokolooidni gelovi s dodatkom biljnih ekstrakata značajno su drugačiji u odnosu na standard (Tablica 14), što je bilo i za očekivati s obzirom na to da su dobiveni ekstrakti obojeni, a to pokazuje i vrijednost varijable L^* koja je kod uzoraka hidrokolooidnih gelova s biljnim ekstraktima manja u odnosu na standard što nam govori kako su uzorci hidrokolooidnih gelova s ekstraktima tamniji u odnosu na standard. Uzorci koji sadrže 4 % škroba su tamniji u odnosu na ostale uzorke jer sadrže više ekstrakta u odnosu na hidrokolooidne gelove s 5 % i 6 % škroba. Kako je provedena HVED ekstrakcija, zbog efekta elektroporacije dolazi do destabilizacije membrana biljnih stanica što omogućava ekstrakciju različitih molekula, tako i molekula spojeva nositelja boje ekstrakta. Difuzija takvih spojeva ovisna je o promjeru pora na elektroporiranoj membrani biljne stanice (Žuntar i sur., 2019).

3D printani hidrokolooidni gelovi s ekstraktom origana pokazuju više vrijednosti varijable a^* ($1,11 \pm 0,22$ do $3,07 \pm 0,10$) u odnosu na hidrokolooidne gelove s ekstraktom kadulje ($-1,86 \pm 0,01$ do $-0,45 \pm 0,27$) što znači da su crveniji u odnosu na hidrokolooidne gelove s ekstraktom kadulje, dok hidrokolooidni gelovi s ekstraktom kadulje pokazuju više vrijednosti varijable b^* ($2,33 \pm 0,48$ do $4,41 \pm 0,06$) u odnosu na hidrokolooidne gelove s ekstraktom origana ($-0,25 \pm 0,15$ do $2,75 \pm 0,36$) što znači da su žučiji u odnosu na hidrokolooidne gelove s ekstraktom origana što je vidljivo i golim okom (Tablice 16a-16c). Hidrokolooidni gelovi s ekstraktom kadulje imaju veće zasićenje (H) u odnosu na hidrokolooidne gelove s ekstraktom origana dok

je najveća promjena u zasićenju (ΔH) vidljiva je kod uzoraka s nativnim kukuruznim škrobom, $9,07 \pm 0,01$ do $9,50 \pm 1,41$ za uzorke s ekstraktom kadulje te $5,22 \pm 0,13$ do $7,78 \pm 0,19$ za uzorke s ekstraktom origana. Ukupna promjena boje (ΔE) najizraženija je kod uzoraka K4%kuk ($11,71 \pm 0,22$) i O4%kr ($16,19 \pm 0,20$). Hokoloidni gelovi s ekstraktom kadulje pokazuju manju razliku kromatičnosti (ΔC) u odnosu na hidrokoloidne gelove s ekstraktom origana s obzirom na standard.

6.3.4. Statistička obrada podataka

Nakon provedene statističke analize kovarijance (ANCOVA) dobiveni su rezultati za p-vrijednost (Tablica 19) i vrijednosti koeficijenta korelacije r (Tablica 20) između svih fizikalno-kemijskih parametara 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima.

Rezultati analize ukupnih polifenola (TPC) i antioksidacijske aktivnosti (FRAP) statistički su značajni ($p \leq 0,05$) prema varijablama koncentracija škroba i vrsta biljke, dok za varijablu vrsta škroba rezultati ne pokazuju statistički značaj ($p > 0,05$). Veliki koeficijent korelacije između TPC i FRAP rezultata ($r = 0,956$) ukazuje na zavisnost varijabli jedne o drugoj, odnosno, povećanje jedne varijable uzrokuje povećanje druge. Koeficijent korelacije TPC i FRAP sa varijablom vrsta biljke također je visok ($r = 0,971$ i $r = 0,941$), dok sa varijablom koncentracija škroba ($r = -0,151$ i $r = -0,156$) i vrsta škroba ($-0,061$ i $r = -0,086$) pokazuju niže negativne vrijednosti korelacije što ukazuje na obrnutu proporcionalnost varijabli. S obzirom na ostale fizikalno-kemijske parametre, značajne korelacije TPC i FRAP su uočene kod parametara boje a^* ($r = 0,897$ i $r = 0,900$), b^* ($r = -0,804$ i $r = -0,826$), H ($r = 0,933$ i $r = 0,866$), Δa^* ($r = 0,906$ i $r = 0,870$), a za ostale fizikalno-kemijske parametre nisu uočene značajne korelacije.

Parametri teksture (tvrdoća, elastičnost, čvrstoća i naprezanje) prema varijabli koncentracija škroba nisu statistički značajni ($p > 0,05$) dok parametar rada pokazuje statistički značajan utjecaj ($p \leq 0,05$). Utjecaj svih parametara teksture, osim parametra rada statistički je značajan ($p \leq 0,05$) o varijabli vrsta škroba, dok za varijablu vrsta biljke statistički značaj ($p \leq 0,05$) imaju svi parametri teksture, osim parametra elastičnosti. Rezultati teksturalne analize prema svim fizikalno-kemijskim parametrima 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima pokazuju relativno niski koeficijent korelacije, osim u slučaju međusobnih korelacija teksturalnih parametara. Potpunu korelaciju ($r = 1$) pokazuju varijable tvrdoće u odnosu na varijablu čvrstoća i naprezanje te varijabla naprezanje sa varijablom čvrstoća što dovodi do zaključka kako su te varijable u potpunosti ovisne jedna o drugoj. Varijabla tvrdoće pokazuje visoki koeficijent korelacije ($r = 0,823$) sa varijablom rad te varijabla rad sa varijablama čvrstoća ($r = 0,823$) i naprezanje ($r = 0,821$) što označava visoku zavisnost jedne varijable o drugoj.

Svi parametri teksture, osim parametra ΔE , statistički su značajni ($p \leq 0,05$) u odnosu na varijablu vrsta biljke što nam govori da je vrsta biljke, odnosno njezin sastav i svojstva, ključna varijabla u analizi boje 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima. Statistički značaj parametara boje (L^* , a^* , ΔC , ΔL , Δa i ΔE) vidljiv je prema varijabli vrsta škroba ($p \leq 0,05$), dok ostali parametri boje ne pokazuju statistički značaj ($p > 0,05$) prema varijabli vrsta škroba. Utjecaj varijable koncentracija škroba nema statistički značaj ($p > 0,05$) na parametre boje osim u slučaju parametara L^* , ΔL i ΔE koji pokazuju statistički značaj ($p \leq 0,05$). Analizom korelacija parametara boje i ostali fizikalno-kemijskih parametara 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova, vidljiv je visok stupanj korelacije između varijabli a^* , b^* , H i Δa te varijabli vrsta biljke ($r=0,925$, $r=-0,825$, $r=0,949$ i $r=0,924$), TPC ($r=0,897$, $r=-0,804$, $r=0,933$ i $r=0,906$) i FRAP ($r=0,900$, $r=-0,826$, $r=0,866$ i $r=0,870$) što ukazuje na međusobnu visoku zavisnost tih varijabli. Visoku korelaciju pokazuju i međusobni parametri boje, varijabla a^* prema varijabli H ($r=0,833$); varijabla b^* prema varijablama C ($r=0,888$), Δb ($r=0,856$) i ΔH ($r=0,866$); varijabla H prema varijabli Δa ($r=0,838$); varijabla C prema varijablama Δb ($r=0,800$) i ΔH ($r=0,921$); varijabla L prema varijabli ΔE ($r=-0,085$) i varijabla Δb prema varijabli ΔH ($r=0,953$). Što dovodi do zaključka kako su parametri boje međusobno ovisni jedni o drugima.

6.3.5. Senzorska analiza jestivih hidrokoloidnih gelova

Senzorska analiza 3D printanih hidrokoloidnih gelova je provedena u svrhu utvrđivanja potrošaču najprihvaćenije recepture hidrokoloidnog gela. Za senzorsku analizu su odabrani uzorci koji u svojoj recepturi sadrže 4 % škroba (nativnog kukuruznog, nativnog krumpirovog ili modificiranog krumpirovog škroba) i ekstrakt origana ili kadulje s obzirom na to da su ti uzorci nakon kemijske analize sadržavali najveći udio ukupnih polifenola i najveću antioksidacijsku aktivnost. Analizu je provodilo 23 panelista koji su ocjenjivali 6 parametara: izgled, boju, aromu, slatkoću/kiselost, teksturu i otapanje u ustima, a rezultati su izraženi kao prosječne ocjene svih panelista. Na Slici 29 grafički su prikazani rezultati senzorske analize tzv. paukovom mrežom te se jasno vidi da je uzorak 3D printanog hidrokoloidnog gela s ekstraktom origana i 4 % modificiranog kukuruznog škroba (uzorak B258) dobio najviše ocjene za izgled, boju, aromu, optimalan omjer slatkoće i kiselosti te teksturu, dok najbolje otapanje u ustima pokazuje uzorak hidrokoloidnog gela s ekstraktom kadulje i 4 % nativnog krumpirovog škroba (uzorak A356). Najveću ukupnu ocjenu je dobio uzorak hidrokoloidnog gela s ekstraktom origana i 4 % modificiranog škroba (uzorak B258) (Slika 30). Na temelju odgovora na postavljena pitanja u senzorskom listiću, samo 4 panelista su pogodila biljku čiji ekstrakt je korišten za pripremu hidrokoloidnog gela, i to za uzorke označene slovom A koji predstavljaju uzorke s ekstraktom kadulje, dok za uzorke označene slovom B koji predstavljaju uzorke s ekstraktom origana, ni jedan panelist nije pogodio biljku od koje je

hidrokoloidni gel napravljen (Tablica 15). 12 od 23 (52,17 %) panelista je kao najprihvaćeniji uzorak 3D printanog hidrokoloidnog gela izabralo uzorak B258 koji predstavlja hidrokoloidni gel s ekstraktom origana i 4 % modificiranog kukuruznog škroba, isti taj uzorak dobio je najviše bodova, 22,9 od mogućih 30 za provedenu senzorsku analizu.

Prema rezultatima provedene deskriptivne senzorske analize jestivi hidrokoloidni gelovi pokazuju dobro otapanje u ustima, dobro prihvaćenu aromu, omjer slatkoće i kiselosti, ali i sam izgled i boju. Zbog svojih osobina potencijalno su primjenjivi u ustanovama poput staračkih domova gdje bi ih mogle konzumirati i osobe s problemom disfagije. Osim u staračkim domovima, jestivi bi se hidrokoloidni gelovi mogli primjenjivati i u vrtićima kao zamjena za gumene/žele bombone, odnosno umjesto pastila koje djeca odbijaju zbog lošeg izgleda i gorkog okusa.

6.4. Elementi industrije 4.0: utjecaj procesa na okoliš isocioekonomska prihvatljivost

Aditivne tehnike, koje se u ovom slučaju odnose na 3D ispis kapsula i 3D ispis jestivih hidrokoloidnih gelova, mogu se povezati s tri dimenzije održivosti: ekonomskom, društvenom i okolišnom (Peng i sur., 2018).

Na temelju podataka za proizvodne procese i potrošnje energije (Tablica 17) pomoću alata CCaLC2 izračunat je ugljični otisak 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom i 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima. Prema tehničkim specifikacijama uređaja za potrošnju energije, vrijednosti su preračunate na operativno vrijeme procesa. Za 3D printane PVA kapsule utrošak električne energije bio je za potrebe liofilizacije biljaka te za 3D printanje PVA kapsula. Prema dobivenim podacima, ukupna potrošnja energije za 1 kapsulu iznosila je 19,439 kWh, od čega se 19,2 kWh odnosi na liofilizaciju, a 0,239 kWh na printanje kapsula. Iz ovih rezultata, jasno je vidljivo kako je liofilizacija energetski najzahtjevniji proces. Za razliku od kapsula, za 3D printanje jestivih hidrokoloidnih gelova, utrošak električne energije bio je za potrebe HVED ekstrakcije, zagrijavanje smjese te 3D printanja hidrokoloidnih gelova. Ukupna potrošnja energije za 5 hidrokoloidna gela iznosila je 0,1988 kWh, od čega se 0,092 kWh odnosi na HVED ekstrakciju, 0,125 kWh na zagrijavanje smjese te 0,06 kWh na printanje svih 5 hidrokoloidnih gelova. Prema podacima potrošnje energije, u alatu CCaLC2 izračunat je ugljični otisak koji je izražen kao kgCO₂/fu („fu“ označava funkcionalnu jedinicu, u slučaju 3D printanih PVA kapsula to je 1 kapsula, a u slučaju 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova to je 5 hidrokoloidnih gelova). Ugljični otisak za 3D printane PVA kapsule iznosi 9,082 kgCO₂/fu, dok za 3D printane jestive hidrokoloidne gelove iznosi 0,129 kgCO₂/fu. Prema tim rezultatima, jasno je vidljivo kako je ugljični otisak 3D printanih PVA kapsula više od 70 puta

veći u odnosu na 3D printane jestive hidrokolojne gelove, što dovodi do zaključka kako su 3D printani jestivi hidrokolojni gelovi okolišno prihvatljiviji u odnosu na 3D printane PVA kapsule te podržavaju održivi razvoj uz manju emisiju stakleničkih plinova.

Uspoređujući liofilizaciju i HVED ekstrakciju kao dva procesa kojima se dobiva biljni materijal/ekstrakt za gotove proizvode može se zaključiti kako je HVED ekstrakcija energetski znatno povoljniji proces od liofilizacije. HVED ekstrakcija troši manje energije (0,092 kWh) u odnosu na liofilizaciju (19,2 kWh), a samim time je i ekološki prihvatljivija zbog iznimno malog ugljičnog otiska HVED ekstrakcije (0,043 kgCO₂/fu) u odnosu na liofilizaciju (8,97 kgCO₂/fu). Usporedbom dva 3D printera, Inventor (FlashForge) za ispis PVA kapsula i Focus 3D Food Printer (byFlow) za ispis jestivih hidrokolojnih gelova, prema rezultatima potrošnje energije i ugljičnog otiska, Focus 3D Food Printer troši znatno manje energije (0,06 kWh) i ima manji ugljični otisak (0,028 kgCO₂/fu) u odnosu na Inventor 3D printer (0,239 kWh i 0,112 kgCO₂/fu). Ugljični otisak predstavlja ključnu kariku u studijama utjecaja procesa na okoliš te kao kvantitativan izraz emisije stakleničkih plinova iz pojedinih aktivnosti pomaže u upravljanju emisijama i procjeni mjera njihova ublažavanja te kao takve, studije utjecaja procesa na okoliš od iznimne su važnosti za održivi razvoj (Anandhan i Prabakaran, 2018).

Ekonomska isplativost 3D printanja PVA kapsula i jestivih hidrokolojnih gelova određena je prema komercijalnim cijenama svake od pojedinih sirovina i potrošnji energije, tj struje prema važećem cjenovniku HEP-a. Na temelju podataka iz Tablice 18 jasno je vidljivo kako je cijena jedne 3D printane PVA kapsule punjene liofiliziranim biljnim materijalom 9,42 kn po kapsuli, dok je cijena jednog 3D printanog jestivog hidrokolojnog gela s biljnim ekstraktom 0,25 kn po hidrokolojnom gelu. Iz ovih rezultata, jasno je vidljivo kako su 3D printani jestivi hidrokolojni gelovi s biljnim ekstraktom ekonomski isplativiji od 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim materijalom te je za cijenu jedne kapsule, moguće isprintati čak 37,68 hidrokolojnih gelova.

U provedenim istraživanjima dokazana je prisutnost polifenolnih spojeva i antioksidacijski kapacitet u 3D ispisanim kapsulama punjenim liofiliziranim biljnim materijalom (kaduljom i origanom) te u 3D ispisanim jestivim hidrokolojnim gelovima s ekstraktom biljnog materijala. Kapsule i jestivi hidrokolojni gelovi koji u svom sastavu sadrže liofilizirani origano, odnosno ekstrakt origana pokazuju 2 do 4 puta veći udio ukupnih polifenola u odnosu na proizvode koji sadrže liofiliziranu kadulju i ekstrakt kadulje. Antioksidacijski kapacitet u proizvodima koji sadrže origano je 2 do 5,3 puta veći u odnosu na proizvode koji sadrže kadulju. Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet jedne kapsule punjene liofiliziranom kaduljom približno je proporcionalan 6 jestivih hidrokolojnih gelova načinjenih od nativnog krumpirovog škroba, odnosno modificiranog kukuruznog škroba te 7 jestivih hidrokolojnih gelova načinjenih od

nativnog kukuruznog škroba. Kako bi konzumacija jedne kapsule punjene liofiliziranim origanom po udjelu ukupnih polifenola i antioksidacijskoj aktivnosti bila približno proporcionalna jestivim hidrokolooidnim gelovima s ekstraktom origana potrebno je konzumirati 5 jestivih hidrokolooidnih gelova načinjenih od nativnog krumpirovog škroba, nativnog kukuruznog škroba, odnosno modificiranog kukuruznog škroba (Tablica 12). Gledano s ekonomskog aspekta bila bi veća isplativost printanja 5/6/7 hidrokolooidnih gelova čija bi cijena iznosila 1,25/1,5/1,75 kn od jedne kapsule čija je cijena 9,42 kn.

Ubrzani razvoj društva, promjene životnog stila i nedostatak vremena za osnovne životne potrebe utječu na sve veće zanimanje potrošača za pristupačnim rješenjima koja će omogućiti očuvanje zdravlja (Vranšević, 2018). Biljni materijal primijenjen za punjenje 3D ispisanih kapsula te za izradu ekstrakata korištenih u 3D ispisanim jestivim hidrokolooidnim gelovima s obzirom na svoja pozitivna djelovanja u izrađenim oblicima imaju potencijal za korištenje kao dodaci prehrani sa svrhom dodatnog obogaćivanja uobičajene prehrane u cilju održavanja zdravlja. Kadulja i origano nalaze se na Listi dozvoljenih biljnih vrsta u Prilogu III. Pravilnika o dodacima prehrani (NN 46/2011) koji se mogu na tržište stavljati u nekoliko oblika, primjerice kao dozirni oblici (kapsule, pastile i sl.). Osim kao dodatak prehrani, 3D ispisani jestivi hidrokolooidni gelovi s dodatkom ekstrakta kadulje i origana imaju potencijalnu primjenu kao funkcionalna hrana koja predstavlja prehrambene proizvode obogaćene nutrijentima s korisnim fiziološkim djelovanjima (Friganović i sur., 2011).

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Uspješno je proveden 3D ispit PVA kapsula koje su zatim punjene liofiliziranim biljnim materijalom
2. Razvijena je optimalna receptura hidrokoloidne smjese za 3D printanje jestivih hidrokoloidnih gelova sa biljnim ekstraktima
3. Uspješno je proveden 3D ispis jestivih hidrokoloidnih gelova sa biljnim ekstraktima
4. Određivanjem brzine otpuštanja *in vitro*, uočen je jednaki trend otpuštanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim biljnim materijalom. Početak otpuštanja bioaktivnih komponenti uočljiv je nakon 50 min, a razdoblje erozije nastupa u 90-toj minuti.
5. Analizom udjela ukupnih polifenolnih spojeva 3D printanih PVA kapsula punjenih biljnim materijalom najviše vrijednosti izmjerene su u $t=120$ min za uzorak origana koji je sadržavao $104,457 \pm 4,364$ mg GAE/g_{uzorka}. U istom vremenu ($t=120$ min) udio ukupnih polifenola u PVA kapsulama punjenim kaduljom iznosio je $60,620 \pm 22,447$ mg GAE/g_{uzorka}.
6. Analizom antioksidacijskog kapaciteta uočena je korelacija s udjelom ukupnih polifenola, najviši antioksidacijski kapacitet određen je u 120-toj min za uzorak PVA kapsule punjene origanom te iznos $1366,815 \pm 68,359$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$, dok je za PVA kapsule punjene kaduljom izmjeren antioksidacijski kapacitet $833,454 \pm 29,706$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$.
7. Analizom udjela ukupnih polifenolnih spojeva 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova najveći udio polifenola sadrži hidrokoloidni gel sa 4 % krumpirovog škroba i ekstraktom origana ($0,838 \pm 0,015$ mg GAE/g_{uzorka}), a najmanji udio ukupnih polifenola sadrži hidrokoloidni gel sa 6 % kukuruznog škroba i ekstraktom kadulje ($0,171 \pm 0,064$ mg GAE/g_{uzorka})
8. Analizom antioksidacijskog kapaciteta 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova najveći antioksidacijski kapacitet ima hidrokoloidni gel sa 4 % krumpirovog škroba i ekstraktom origana ($8,319 \pm 0,285$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$), a najmanji antioksidacijski kapacitet ima hidrokoloidni gel sa 6 % kukuruznog škroba i ekstraktom kadulje ($0,798 \pm 0,742$ $\mu\text{mol FE/g}_{uzorka}$)
9. Provedenom instrumentalnom analizom teksture uočena je korelacija rezultata tvrdoće 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s ostalim parametrima analize teksture.
10. Provedenom analizom boje, 3D printani jestivi hidrokoloidni gelovi s dodatkom ekstrakata su tamniji u odnosu na standard. Usporedbom vrijednost parametara a^* i b^* , 3D printani hidrokoloidni gelovi s ekstraktom origana crveniji su u odnosu na hidrokoloidne gelove s ekstraktom kadulje, a 3D printani hidrokoloidni gelovi s ekstraktom kadulje su žući u odnosu na hidrokoloidne gelove s ekstraktom origana.

- 11.** Rezultati provedene senzorske analize 3D printanih jestivih hidrokoloidnih gelova s biljnim ekstraktima pokazuju dobro otapanje hidrokoloidnih gelova u ustima, dobro prihvaćenu aromu, omjer slatkoće i kiselosti te izgled i boju. 52,17 % ispitanika je odabralo je hidrokoloidni gel sa 4 % modificiranog kukuruznog škroba i ekstraktom origana kao najprihvaćeniji.
- 12.** Analizom utjecaja procesa na okoliš, ugljični otisak za 3D printane PVA kapsule punjenih liofiliziranim biljnim materijalom (9,082 kgCO₂/fu) više od 70 puta je veći u odnosu na ugljični otisak 3D printanih hidrokoloidnih gelova sa biljnim ekstraktima (0,129 kgCO₂/fu) čime su 3D printani hidrokoloidni gelovi okolišno prihvatljiviji u odnosu na 3D printane PVA kapsule zbog manje emisije stakleničkih plinova.
- 13.** 3D printani jestivi hidrokoloidni gelovi s biljnim ekstraktom su ekonomski isplativiji od 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim materijalom, cijena jedne 3D printane PVA kapsule punjene liofiliziranim biljnim materijalom iznosi 9,42 kn, dok je cijena jednog 3D printanog jestivog hidrokoloidnog gela s biljnim ekstraktom 0,25 kn.
- 14.** Aditivne tehnike, kao element Industrije 4.0 pronalaze primjenu u biotehničkim znanostima, posebno kao inovativna tehnika primijenjena u razvoju novih proizvoda s potencijalnom primjenom kao funkcionalna hrana i/ili dodatak prehrani.

8. ZAHVALE

Prvenstveno se zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak na brojnim savjetima, pomoći i prenešenom znanju. Hvala Vam na pruženoj prilici i poticanju kroz cijeli rad.

Veliko hvala asistentici Marineli Nutrizio, mag. nutr. na strpljenu, stručnosti i nesebičnoj pomoći tijekom cijele izrade rada.

Zahvaljujemo i doc. dr. sc. Sandi Pleslić (Zavod za primijenjenu fiziku, Fakultet elektrotehnike i računarstva Sveučilišta u Zagrebu), prof. dr. sc. Gordani Matijašić i Matiji Gretiću, mag.ing.cheming. (Zavod za mehaničko i toplinsko procesno inženjerstvo, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu), doc. dr. sc. Svenu Karloviću (Zavod za procesno inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu) i prof. dr. sc. Iliji Đekiću (Zavod za sigurnost hrane i upravljanje kvalitetom, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu) na pomoći i svim korisnim savjetima koji su doprinijeli ovom radu.

9. LITERATURA

Alba, K., Kontogiorgos, V. (2019) Seaweed Polysaccharides (Agar, Alginate Carrageenan). U: *Encyclopedia of Food Chemistry* (Melton, L., Shahidi F, Varelis, P., ured.), Elsevier, Amsterdam, str. 240-250.

Albanoa, S.M., Miguel, M.G. (2011) Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Ind. Crop. Prod.*, **33**(2), 338–343.

Ameer, K., Shahbaz, H.M., Kwon, J.H. (2017) Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **16**, 295-315

Anandhan, M., Prabakaran, T. (2018) Environmental Impacts of Natural Dyeing Process Using Pomegranate Peel Extract as a Dye. *Int. J. Appl. Eng. Res.***13**, 7765-7771.

Anđelić, N., Rajaković-Ognjanović, V. (2019) Primena i mogućnosti programskog paketa „CCaLC2” za procenu uticaja proizvodnih procesa u industriji na životnu sredinu. *Vodoprivreda* **51**, 251-258

Anonymus 1 (2018) <<http://gmformazione.it/competenze-industry-4-0-cosi-le-pmi-le-adeguano-al-mercato/>> Pristupljeno 22. veljače 2020.

Anonymus 2 (2017) <<https://www.foodmanufacture.co.uk/Article/2017/06/15/Smart-food-factories-move-even-closer>> Pristupljeno 7. travnja 2020.

Anonymus 3<<https://all3dp.com/1/types-of-3d-printers-3d-printing-technology/>> Pristupljeno: 4. travnja 2020.

Anonymus 3 <<https://biljoteka.ba/kadulja-zalfija-salvia-officinalis/>> Pristupljeno 14. srpnja 2020.

Anonymus4 <<https://www.sorianatural.com/plants/oregano-i-origanum-vulgare-i-l>> Pristupljeno 24. travnja 2020.

Azwanida, N.N. (2015) A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med. Aromat. Plants.* **4** (3) doi:10.4172/2167-0412.1000196

- Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Dujmović, M., Karlović, S., Biškić, M., Brnčić, M., Ježek, D. (2015). Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. *Food Chem.* **167**,61–70.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.***239**, 70-76.
- Bertoft, E. (2017) Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy***7**, 56-85.
- Birch, L. L., Gunder, L., Grimm-Thomas, K., Laing, D. (1998) Infants' consumption of a new food enhances acceptance of similar foods. *Appetite* **30**, 283–295.
- Blank, D., Alves, G., Nascente, P., Freitag, R., Cleff, M. (2020) Bioactive Compounds and Antifungal Activities of Extracts of *Lamiaceae* Species. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment***9**, 85-96.
- Blekić, M., Režek Jambrak, A., Chemat, F. (2011) Mikrovalna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croat. J. Food Sci. Technol.***3** (1) 32-47.
- Blunck, E., Werthmann, H. (2017) Industry 4.0 - an opportunity to realize sustainable manufacturing and its potential for a circular economy. *DIEM* **3**, 644-666.
- Cioroi, M., Dumitriu, D. (2009) Studies on total polyphenols content and antioxidant activity of aqueous extracts from selected lamiaceae species. *Food Technol.***34**, 42-46.
- Ciurzyńska, A., Lenart, A. (2011) Freeze-Drying – Application in Food Processing and Biotechnology – A Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **61**, 165-171.
- del Valle, J. M., Uquiche, E. L. (2002) Particle size effects on supercritical CO₂ extraction of oil-containing seeds. *J. Am. Oil. Chem. Soc.***79**, 1261-1266.
- Derossi, A., Caporizzi, R., Azzollini, D., Severini, C. (2017) Application of 3D printing for customized food. A case on the development of a fruit-based snack for children. *J. Food Eng.* **220**, 65-75.
- Dupuis, J.H., Liu, Q. (2019) Potato Starch: a Review of Physicochemical, Functional and Nutritional Properties. *Am. Potato J.*doi: 10.1007/s12230-018-09696-2

Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A., Boskou, D. (2002) Antioxidant Activities and Phenolic Composition of Extracts from Greek Oregano, Greek Sage, and Summer Savory. *J. Agric. Food Chem.***50**, 5294–5299.

Faller, A.L.K., Fialho, E. (2009) The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res. Int.***42**, 210–215.

Friganović, E., Čalić, S., Maleš, V. i Mustapić, A. (2011). Funkcionalna hrana i potrošači. *Praktični menadžment*, **2** (1), 51-57.

Gebhardt, A. (2011) *Understanding Additive Manufacturing*, Hanser, München.

Ghorbani, A., Esmailizadeh, M. (2017) Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components *J. Tradit. Complement. Med.***7**, 433-440.

Giacometti, J., Bursać Kovačević, D., Putnik, P., Gabrić, D., Bilušić, T., Krešić, G., Stulić, V., Barba, F.J., Chemat, F., Barbosa-Cánovas, G., Režek Jambrak, A. (2018) Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review. *Food Res. Int.***113**, 245–262.

Gibson, I., Rosen, D., Stucker, B. (2015) *Additive Manufacturing Technologies 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing*, 2. izd., Springer, New York.

Godec, D., Šercer, M. (2015), *Aditivna proizvodnja*, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb

Godoi, F.C., Prakash, S., Bhandari, B.R (2016) 3D printing technologies applied for food design: status and prospects. *J. Food Eng.* **179**, 44-54

Hnin, K.K., Zhang, M., Devahastin, S., Wang, B. (2019) Influence of Novel Infrared Freeze Drying of Rose Flavored Yogurt Melts on Their Physicochemical Properties, Bioactive Compounds and Energy Consumption. *Food Bioprocess Tech.* **12**, 2062-2073.

Holland, S., Tuck, C., Foster, T. (2018) Fluid Gels: a New Feedstock for High Viscosity Jetting. *Food Biophys.***13**, 175-185.

Huang, C.Y. (2018) *Extrusion-based 3D Printing and Characterization of Edible Materials*. (doktorska disertacija), Sveučilište Waterloo, Ontario.

Huang, S. H., Liu, P., Mokasdar, A., Hou, L. (2013) Additive manufacturing and its societal impact: a literature review. *Int. J. Adv. Manuf. Tech.* **67**, 1191–1203.

Ishack, S., Lipner, S.R. (2020) Applications of 3D Printing Technology to Address COVID-19-Related Supply Shortages. *Am. J. Med.* **133**, 385-387

Jaeschke, D. P., Mercali, G. D., Marczak, L. D. F., Müller, G., Frey, W., Gusbeth, C. (2019). Extraction of valuable compounds from *Arthrospira platensis* using pulsed electric field treatment. *Bioresour. Technol.* **283**, 207-212.

Jawahir, I.S., Bradley, R. (2016) Technological Elements of Circular Economy and the Principles of 6R-Based Closed-loop Material Flow in Sustainable Manufacturing. *Procedia CIRP.* **40**, 103-108.

Jovanović, A., Petrović, P., Đorđević, V., Zdunić, G., Šavikin, K., Bugarski, B. (2017) Polyphenols extraction from plant sources. *Lekovite Sirovine.* **37**, 45-49.

Jutsen, J., Pears, A., Mojiri, A., Hutton, L. (2018) Transforming energy productivity in manufacturing. Sydney: Australian Alliance for Energy Productivity.

Keppner, B., Kahlenborn, W., Richter, S., Jetzke, T., Lessmann, A., Bovenschulte, M. (2018) Focus on the future: 3D printing. Trend report for assessing the environmental impacts. Umweltbundesamt (UBA), Dessau-Roßlau.

Khanpara, P., Tanwar, S. (2020) Additive Manufacturing: Concepts and Technologies. *U:A Roadmap to Industry 4.0: Smart Production, Sharp Business and Sustainable Development*, (Nayyar, A., Kumar, A., ured.), Springer, Cham, str. 171-185.

Kodama, M., Takita, Y., Tamate, H., Saito, A., Gong, J., Makino, M., Khosla, A., Kawakami, M., Furukawa, H. (2017) Novel Soft Meals Developed by 3D Printing U: *Future Foods* (Mikkola, H. ured.). IntechOpen, London, doi: 10.5772/intechopen.70652

Li, J., Wu, C., Chu, P.K., Gelinsky, M. (2020) 3D printing of hydrogels: Rational design strategies and emerging biomedical applications. *Mater Sci. Eng.* **140**,. doi:10.1016/j.mser.2020.100543

Liu, Z., Zhang, M., Bhandari, B., Wang, Y. (2017) 3D printing: Printing precision and application in food sector. *Trends Food Sci. Tech.* **69**, 83-94.

Mani, M., Lyons, K.W., Gupta, S.K. (2014) Sustainability Characterization for Additive Manufacturing. *J. Res. Natl. Inst. Stan.* **119**, 419-428.

Matijašić, G., Gretić, M., Vinčić, J., Poropat, A., Cuculić, L., Rahelić, T. (2019) Design and 3D printing of multi-compartmental PVA capsules for drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Tec.* **52**, 677-686.

Matijašić, G., Gretić, M., Vinčić, J., Poropat, A., Cuculić, L., Rahelić, T. (2019) Design and 3D printing of multi-compartmental PVA capsules for drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **52**, 677–686.

McBurney, D. H., & Gent, J. F. (1979) On the nature of taste qualities. *Psychol. Bull.* **86**, 151–167.

Milićević, A., Gretić, M., Matijašić, G. (2019) 3D-tiskani oralni dozirni oblici punjeni disperzijom ulja i djelatne tvari. *Kem. Ind.* **68** (9-10) 389–396.

Morozov, D., Lezoche, M., Panetto, H. (2018) Multi-paradigm modelling of Cyber-Physical System, *IFAC PapersOnLine.* **51**, 1385-1390.

Mrugalska, B., Wyrwicka, M.K. (2017) Towards Lean Production in Industry 4.0, *Procedia Eng.* **182**, 466-473.

Mutalib, L.Y. (2015) Comparison between conventional and modern methods for extraction of *Rosmarinus officinalis* leaves. *Zanco J. Med. Sci.* **19**, 1029-1034.

Nireesha, G.R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjan Babu, M., Lavakumar, V. (2013) Lyophilization/Freeze Drying - An Review. *International Journal Of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences* **3**, 87-98.

Nutrizio, M, Gajdoš Kljusuri, J., Badanjak Sabolović, M., Bursać Kovačević, D., Šupljika, F., Putnik, P., Semencić Čakić, M., Dubrović, I., Vrsaljke, D., Maltar-Strmečki, N., Režek Jambrak, A. (2019) Valorization of sage extracts (*Salvia officinalis* L.) obtained by high

voltage electrical discharges: Process control and antioxidant properties. *Innov. Food Sci. Emerg.* doi: 10.1016/j.ifset.2019.102284

Nutrizio, M., Maltar-Strmečki, N., Chemat, F., Duić, B., Režek Jambrak, A. (2020) High-Voltage Electrical Discharges in Green Extractions of Bioactives from Oregano Leaves (*Origanum vulgare* L.) Using Water and Ethanol as Green Solvents Assessed by Theoretical and Experimental Procedures. *Food Eng. Rev.* doi: 10.1007/s12393-020-09231-2

Panda, D., Manickam, S. (2019) Cavitation Technology—The Future of Greener Extraction Method: A Review on the Extraction of Natural Products and Process Intensification Mechanism and Perspectives. *Appl. Sci.* **9** doi:10.3390/app9040766

Pandey, D., Agrawal, M., Pandey, J.S. (2011) Carbon footprint: current methods of estimation. *Environ. Monit. Assess.* **178**, 135–160.

Pandey, D., Agrawal, M., Shanker Pandey, J. (2011) Carbon footprint: current methods of estimation. *Environ. Monit. Assess.* **178**, 135–160.

Peng, T., Kellens, K., Tang, R., Chen, C., Chen, G. (2018) Sustainability of additive manufacturing: An overview on its energy demand and environmental impact. *Addit. Manuf.* **21**, 694–704.

Pezzani, R., Vitalini, S., Iriti, M. (2017) Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. *Phytochem. Rev.* **16**. 1253–1268.

Poojary, M.M., Roohinejad, S., Barba, F.J., Koubaa, M., Puértolas, E., Režek Jambrak, A., Greiner, R., Oey, I. (2016) Application of Pulsed Electric Field Treatment for Food Waste Recovery Operations. *Handbook of Electroporation*. doi:10.1007/978-3-319-26779-1_185-1

Poór, P., Ženišek, D., Basl, J. (2019) Historical Overview of Maintenance Management Strategies: Development from Breakdown Maintenance to Predictive Maintenance in Accordance with Four Industrial Revolutions. *Proceedings of the International Conference on Industrial Engineering and Operations Management, Pilsen*, str. 495-504.

Pravilnik o dodacima prehrani (2011) *Narodne novine* 46, Zagreb

Przetaczek-Rożnowska, I. (2017) Physicochemical properties of starches isolated from pumpkin compared with potato and corn starches. *Int. J. Biol. Macromol.***101**, 536–542.

Putnik, P., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Roohinejad, S., Režek Jambrak, A., Granato, D., Montesano, D., Bursač Kovačević, D. (2018) Novel Food Processing and Extraction Technologies of High-Added Value Compounds from Plant Materials. *Foods***7**, 106-121.

Rojko, A. (2017) Industry 4.0 Concept: Background and Overview, *International Journal of Interactive Mobile Technologies***11**, 77-90.

Rushforth, R.R., Adams, E.A., Ruddell, B.L. (2013) Generalizing ecological, water and carbon footprint methods and their worldview assumptions using Embedded ResourceAccounting. *Water Resour. Ind.***1**, 77–90.

Santos, E.E., Amaro, R.C., Bustamante, C.C.C., Guerra, M.H.A., Soares, L.C., Froes, R.E.S. (2020) Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. *Food Hydrocoll.***107**. doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105921

Shahid, M., Yusuf, M., Mohammad, F. (2016) Plant phenolics: a review on modern extraction techniques U: Recent Progress in Medicinal Plants 41. izd. Analytical and Processing Techniques (Govil, J.N., Pathak, M. ured.). Studium Press, Houston, 265-287

Shortle, E., O'Grady, M.N., Gilroy, D., Furey, A., Quinn, N., Kerry, J.P. (2014). Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat Sci.***98**, 828-834.

Singh, J., Singh, N. (2003) Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches. *Food Hydrocoll.***17**, 63-72.

Singhvi, G., Singh, M. (2011) Review: *In-vitro* drug release characterization models. *Int. J. of Pharm.***2**, 77-84.

Spence, C. (2015) On the psychological impact of food colour. *Flavour* **4**,doi: 10.1186/s13411-015-0031-3

Stein, L. J., Nagai, H., Nakagawa, M., & Beauchamp, G. K. (2003) Effects of repeated exposure and health-related information on hedonic evaluation and acceptance of a bitter beverage. *Appetite* **40**, 119–129.

Tan ,C., Toh, W. Y., Wong. G. (2018), Extrusion-based 3D food printing – Materials and machines, *Int. J. Bioprint.* **4**doi:10.18063/IJB.v4i2.143

Thiesse, F., Wirth, M., Kemper, H.G., Moisa, M., Morar, D., Lasi, H., Piller, F., Buxmann, P., Mortara, L., Ford, S., Minshall, T. (2015) Economic Implications of Additive Manufacturing and the Contribution of MIS. *Bus. Inf. Syst. Eng.* **57**, 139–148.

Tjahjono, B., Esplugues, C., Ares, E., Pelaez, G. (2017) What does Industry 4,0 mean to Supply Chain?, *Procedia Manuf.***13**, 1175-1182

Toplak Galle, K. (2001) *Hrvatsko ljekovito bilje*, Mozaik knjiga, Zagreb.

Torres, M.D., Fradinho, P., Rodríguez, P., Falqué, E., Santos, V., Domínguez, H. (2020) Biorefinery concept for discarded potatoes: Recovery of starch and bioactive compounds. *J.Food Eng.***275**. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109886

Turturică, M., Stănciuc, N., Bahrim, G., & Râpeanu, G. (2016) Effect of thermal treatment on phenolic compounds from plum (*Prunus domestica*) extracts – A kinetic study. *J. Food Eng.***171**, 200–207.

Vahčić, N., Hruškar, M., Marković, K. (2000) Metoda kvantitativne deskriptivne analize u senzorskoj procjeni jogurta. *Mljekarstvo* **50**, 279-296.

Vaidyaa, S.,Ambadb, P., Bhoslec, S. (2018) Industry 4.0 – A Glimpse, *Procedia Manuf.* **20**, 233-238.

Vancauwenberghe, V., Katalagianakis,L., Wang, Z., Meerts, M., Hertog, M., Verboven, P., Moldenaers, P., Hendrickx, M.E., Lammertyn, J., Nicolai, B. (2017) Pectin based food-ink formulations for 3-D printing of customizable porous food simulants. *Innov. Food. Sci. Emerg.* **42**, 138-150.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.***105**, 940–949.

Xi, J., He, L., Yan, L.G. (2017) Continuous extraction of phenolic compounds from pomegranate peel using high voltage electrical discharge. *Food Chem.***230**, 354–361.

Xiaorong, Z., Honghui, F., Hongjin, Z., Zhongjun, F., Hanyu, F. (2015) The Design of the Internet of Things Solution for Food Supply Chain, EMIM, Shenyang, str. 314-318.

Xing, J., Li, D., Wang, L., Adhikari, B. (2018) Temperature thresholds and time-temperature dependence of gelatinization for heat-moisture treated corn starch. *J. Food Eng.***217**, 43-48.

Yang, F., Zhang, M., Bhandari, B. (2017) Recent development in 3D food printing. *Crit. Rev. Food Sci.* **57**, 3145-3153.

Zheng, L., Tong, T., Zou, Q., Han, S., Jiang, H. (2019) The characteristics of starch gels molded by 3D printing. *J. Food Process. Pres.***47**doi: 10.1111/jfpp.13993

Zhong, R.Y., Xu, X., Klotz, E., Newman, S.T. (2017) Intelligent Manufacturing in the Context of Industry 4.0: A Review, *Engineering.* **3**, 616-630.

Žuntar, I., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Nutrizio, M., Šupljika, F., Poljanec, A., Dubrović, I., Barba, F. J., Režek Jambrak, A. (2019) Phenolic and Antioxidant Analysis of Olive Leaves Extracts (*Olea europaea L.*) Obtained by High Voltage Electrical Discharges (HVED). *Foods*, **8** doi:10.3390/foods8070248

Marko Baruškin i Jelena Kraj

Primjena elemenata industrije 4.0 u biotehničkim znanostima: aditivne tehnike u kreiranju kapsula s biljnim materijalom i jestivih hidrokolooidnih gelova s biljnim ekstraktima

SAŽETAK

Sukladno brojnim izazovima prehrambene industrije i zahtjevima potrošača za proizvodima koji će omogućiti očuvanje zdravlja, personalizaciju i jednostavnu konzumaciju raste zainteresiranost za funkcionalnu hranu i dodatke prehrani. Cilj istraživanja bio je kreiranje 3D printanih kapsula punjenih biljnim materijalom i 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova s biljnim ekstraktima primjenom elemenata Industrije 4.0. Nakon *in vitro* ispitivanja brzine oslobađanja bioaktivnih komponenti iz 3D printanih PVA kapsula punjenih liofiliziranim origanom/kaduljom provedena je analiza udjela ukupnih polifenola metodom sa F.C. reagensom i antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom. Prema dobivenim rezultatima nakon 120 min veći udio ukupnih polifenola i veću antioksidacijsku aktivnost posjeduje origano ($104,457 \pm 4,364$ mg GAE/g_{uzorka}; $1366,815 \pm 68,359$ μ mol FE/g_{uzorka}) u odnosu na kadulju ($60,620 \pm 22,447$ mg GAE/g_{uzorka}; $833,454 \pm 29,706$ μ mol FE/g_{uzorka}). Nakon razvitka printabilne smjese hidrokolooida (agar u kombinaciji s različitim koncentracijama i vrstama škrobova) provedena je analiza ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova s ekstraktom origana/kadulje istim metodama. U 3D printanim hidrokolooidnim gelovima raspon udjela ukupnih polifenola za origano kreće se od $0,614 \pm 0,012$ do $0,838 \pm 0,015$ mg GAE/g_{uzorka}, a za kadulju od $0,171 \pm 0,064$ do $0,263 \pm 0,012$ mg GAE/g_{uzorka} dok je raspon antioksidacijske aktivnosti od $5,889 \pm 0,463$ do $8,720 \pm 1,622$ μ mol FE/g_{uzorka} za origano i od $1,322 \pm 0,742$ do $3,555 \pm 0,179$ μ mol FE/g_{uzorka} za kadulju. Provedenom senzorskom analizom 3D printanih jestivih hidrokolooidnih gelova, 52,17 % ispitanika je kao najprihvatljiviji uzorak odabralo hidrokolooidni gel sa 4 % modificiranog kukuruznog škroba i ekstraktom origana. Kako implementacija elemenata Industrije 4.0 u industrijsku proizvodnju uključuje razvoj prema održivoj proizvodnji, provedena je i analiza utjecaja procesa na okoliš. Ugljični otisak za 3D printane PVA kapsule iznosi 9,082 kgCO₂/fu, a za 3D printane jestive hidrokolooidne gelove 0,129 kgCO₂/fu što je više od 70 puta manje u odnosu na 3D printane PVA kapsule. Promatrajući ekonomsku isplativost, cijena jedne 3D printane PVA kapsule punjene liofiliziranim biljnim materijalom iznosi 9,42 kn, a cijena jednog 3D printanog jestivog hidrokolooidnog gela s biljnim ekstraktom 0,25 kn. Primjenom elemenata Industrije 4.0 uspješno je kreiran novi proizvod sa potencijalnom primjenom kao funkcionalna hrana ili dodatak prehrani koji omogućava jednostavnu konzumaciju i osigurava unos bioaktivnih tvari te je ekonomski i ekološki prihvatljiv.

Ključne riječi: Industrija 4.0, aditivne tehnike, 3D printanje, jestivi hidrokolooidni gelovi, PVA kapsule

The implementation of elements of the Industry 4.0 in biotechnical sciences: additive manufacturing techniques in creating capsules with plant material and edible hydrocolloid gels with plant extracts

SUMMARY

In line with numerous challenges in the food industry and consumer demands for health beneficial, personalized and easily consumptive products, there has been a rising interest for functional foods and food supplements. The aim of this research was to create 3D printed capsules filled with plant material and edible 3D printed hydrocolloid gels with plant extracts applying elements of the industry 4.0. After the in vitro examination of the release speed of bioactive components from 3D printed PVA capsules filled with lyophilized oregano/sage, the total polyphenols content using the FCR method and antioxidant activity using the FRAP method were analyzed. According to the results after 120 min, oregano possessed higher total polyphenols content and more antioxidant activity (104.457 ± 4.364 mg GAE/g_{sample} ; 1366.815 ± 68.359 μ mol FE/g_{sample}) in comparison to sage (60.620 ± 22.447 mg GAE/g_{sample} ; 833.454 ± 29.706 μ mol FE/g_{sample}). After the development of a printable hydrocolloid paste (agar in combination with different concentrations and kinds of starch) the analysis of total polyphenols and antioxidant activity of the 3D printed gels with oregano/sage extracts was conducted with the same methods. In the 3D printed gels the range of total polyphenols for oregano was between 0.614 ± 0.012 and 0.838 ± 0.015 mg GAE/g_{sample} and for sage between 0.171 ± 0.064 and 0.263 ± 0.012 mg GAE/g_{sample} , whereas the antioxidant activity ranged between 5.889 ± 0.463 and 8.720 ± 1.622 μ mol FE/g_{sample} for oregano and between 1.322 ± 0.742 and 3.555 ± 0.179 μ mol FE/g_{sample} for sage. After conducting the sensory analysis of the 3D printed edible gels, 52.17 % of the subjects chose the gel with 4 % modified corn starch and oregano extract as the most acceptable sample. As the implementation of elements from the industry 4.0 includes the development to sustainable production, research was conducted on the environmental impact of the process. The carbon footprint for the 3D printed PVA capsule amounts 9.082 kgCO₂/fu and for the 3D printed edible gel 0.129 kgCO₂/fu, which is more than 70 times less in comparison to the 3D printed PVA capsules. Concerning the cost effectiveness, the price of one 3D printed PVA capsule with lyophilized plant material is 9.42 HRK, whereas the price of one 3D printed edible gel with plant extract is 0.25 HRK. Implementing elements from the industry 4.0, a new product was successfully created with the potential use as functional food or a food supplement, which enables simple consumption, ensures the input of bioactive substances and is economically and ecologically acceptable.

Key words: Industry 4.0, additive manufacturing techniques, 3D printing, edible hydrocolloid gels, PVA capsules